

DIE INTRAZELLULÄR GEMESSENE
ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT
DER ISOLIERTEN VENA PORTAE
DES MEERSCHWEINCHENS: EFFEKTE VON
INKUBATIONSBEDINGUNGEN UND EINIGEN
MIT DEN CALCIUM-IONEN
INTERFERIERENDEN PHARMAKA

Manfred Ernst

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0011

Aus dem Physiologischen Institut der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. G. ten Bruggencate

Prof. Dr. E. Gerlach

Prof. Dr. K. Thureau

vorgelegt über das

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker
Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. U. Lösch

DIE INTRAZELLULÄR GEMESSENE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT
DER ISOLIERTEN VENA PORTAE DES MEERSCHWEINCHENS:
EFFEKTE VON INKUBATIONSBEDINGUNGEN UND EINIGEN MIT
DEN CALCIUM-IONEN INTERFERIERENDEN PHARMAKA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Manfred Ernst

aus

Neustadt/Aisch

München 1982

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München



Dekan:	Prof. Dr. G. Terplan
1. Referent:	Prof. Dr. U. Lösch
2. Referent:	Prof. Dr. D. Hegner
1. Korreferent:	Prof. Dr. A. Petter
2. Korreferent:	Prof. Dr. H.-G. Liebich
3. Korreferent:	Prof. Dr. E. Scharrer

Tag der Promotion: 26. Februar 1982

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. E I N L E I T U N G U N D Z I E L S E T Z U N G	1
2. S C H R I F T T U M	3
2.1. M E T H O D E N	3
2.2. S P O N T A N A K T I V I T Ä T	6
2.3. M E M B R A N P O T E N T I A L	7
2.3.1. Änderungen des Membranpotentials	8
2.3.1.1. Aktionspotential	9
2.3.1.2. Ionale Basis des Aktionspotentials	9
2.3.1.3. Langsame Änderungen des Membranpotentials	11
2.3.1.4. Zusammenstellung intrazellulärer Meßdaten	12
2.4. D I E K O P P L U N G Z W I S C H E N E R R E G U N G U N D K O N T R A K T I O N	13
2.5. D I E A B H Ä N G I G K E I T D E R S P O N T A N A K T I V I T Ä T D E R I S O - L I E R T E N V . P O R T A E V O N V E R S C H I E D E N E N F A K T O R E N	17
2.5.1. Der Effekt der Osmolarität auf die Spontan- aktivität	17
2.5.2. Der Effekt der Temperatur auf die Spontan- aktivität	18
2.5.3. Der Effekt der extrazellulären Calcium-Konzen- tration auf die Spontanaktivität	20
2.5.4. Die Wirkungsweise der Calcium-Antagonisten	21
2.5.5. Die Wirkungsweise der Lokalanästhetika	23
2.5.6. Die Wirkungsweise von Tocainid	26
2.5.7. Die Wirkung von Calcium-selektiven Ionophoren	27
2.5.8. Natrium-Calcium-Wechselbeziehungen	29
2.5.9. Die Wirkungsweise von Ouabain	31
3. M A T E R I A L U N D M E T H O D I K	33
3.1. P R Ä P A R A T I O N	33
3.2. G L A S M I K R O E L E K T R O D E N	35
3.3. M E S S A N O R D N U N G	35

	Seite
3.4.	LÖSUNGEN 37
3.5.	SUBSTANZEN 37
3.6.	INKUBATIONSBEDINGUNGEN 41
3.7.	KRITERIEN FÜR EINE ERFOLGREICHE ABLEITUNG 41
3.8.	DEFINITION DER MESSPARAMETER 42
3.9.	AUSWERTUNG DER MESSERGEBNISSE 44
3.9.1.	Ablesung der Ergebnisse 44
3.9.2.	Rechnerische Auswertung der Meßergebnisse 44
3.10.	DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE 45
4.	ERGEBNISSE 46
4.1.	DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE DES MEERSCHWEINCHENS IN ISOOSMOLARER KREBS-LÖSUNG 46
4.2.	DER EINFLUSS EINER HYPEROSMOLAREN INKUBATIONS-LÖSUNG AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN VENA PORTAE 51
4.3.	DER EINFLUSS DER INKUBATIONSTEMPERATUR AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE 53
4.4.	DER EINFLUSS DER EXTRAZELLULÄREN CALCIUM-KON-ZENTRATION AUF DIE ELEKTRISCHE AKTIVITÄT DER VENA PORTAE 56
4.5.	DIE WIRKUNG DES CALCIUM-ANTAGONISTEN NIFEDIPIN AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE 57
4.6.	DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER LOKALANÄSTHETIKA UND DES ANTIARRHYTHMIKUMS TOCAINID AUF DIE ELEKTRI-SCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE 69
4.6.1.	Prilocain 69
4.6.2.	Mepivacain 73
4.6.3.	Procain 79
4.6.4.	Tocainid 84

	Seite
4.7. DIE WIRKUNG DER IONOPHORE A 23187 AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE	91
4.8. DER EFFEKT EINER INKUBATION IN NATRIUM-FREIEN LÖSUNGEN AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE	93
4.8.1. Ca - 2,5	93
4.8.2. Ca - 66	96
4.9. DIE WIRKUNG VON OUABAIN AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE	98
5. DISKUSSION	102
6. ZUSAMMENFASSUNG	119
SUMMARY	121
7. LITERATURVERZEICHNIS	123

ABKÜRZUNGEN

AP	Aktionspotential
MP	Membranpotential
RMP	Ruhemembranpotential
EZR	Extrazellulärraum
IZR	Intrazellulärraum
E_D	Diffusionspotential
F	FARADAYSche Konstante
R	Elektrischer Widerstand
T	Absolute Temperatur
P_{Na^+}	Membranleitfähigkeit für Natrium-Ionen
P_{K^+}	Membranleitfähigkeit für Kalium-Ionen
P_{Cl^-}	Membranleitfähigkeit für Chlorid-Ionen
$[Na^+]_a (i)$	extrazelluläre (intrazelluläre) Natrium-Ionen-Konzentration
$[K^+]_a (i)$	extrazelluläre (intrazelluläre) Kalium-Ionen-Konzentration
$[Cl^-]_a (i)$	extrazelluläre (intrazelluläre) Chlorid-Ionen-Konzentration

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die elektrophysiologischen Eigenschaften der glatten Gefäßmuskulatur waren Gegenstand verschiedener Untersuchungen. Die dabei erhaltenen Resultate wurden größtenteils mittels extrazellulärer Meßtechniken gewonnen. Intrazelluläre Meßdaten der elektrischen Aktivität der Gefäßmuskulatur sind dagegen in der Literatur nur vereinzelt zu finden. Dies mag in den technischen Schwierigkeiten begründet sein, die die intrazelluläre Meßmethodik bereitet. Da die Technik der intrazellulären Potentialableitung jedoch imstande ist, relativ genaue Daten der elektrischen Aktivität zu liefern, war das Ziel der vorliegenden Untersuchungen, anhand der Mikroelektroden-Technik Langzeitableitungen der elektrischen Aktivität der isolierten Vena portae des Meerschweinchens durchzuführen. Die fortlaufende Registrierung der intrazellulären elektrischen Aktivität über längere Zeiträume war Voraussetzung, folgende Fragestellungen beantworten zu können:

- 1) Welches Muster hat die elektrische Spontanaktivität der isolierten V.portae in isoosmolarer KREBS-Lösung?
- 2) Wie verändert sich das normale Muster der elektrischen Spontanaktivität bei erhöhter Osmolarität der Inkubationslösung?
- 3) Welchen Einfluß übt die Inkubationstemperatur auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae aus?
- 4) Welchen Einfluß hat die Veränderung der extrazellulären Calcium-Konzentration auf die intrazelluläre elektrische Aktivität der V.portae?
- 5) Welchen Effekt hat der spezifische Calcium-Antagonist Nifedipin auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae? Welche Abhängigkeit zeigt dieser Effekt von der extrazellulären Calcium-Konzentration?
- 6) Welchen Effekt haben die Lokalanästhetika Prilocain, Mepivacain, Procain und das Antiarrhythmikum Tocainid auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae? Wie läßt sich dieser Effekt durch die Erhöhung der extrazellulären Calcium-Kon-

zentration beeinflussen?

- 7) Wie verändert die Calcium-selektive Ionophore A 23187 die elektrische Spontanaktivität der V.portae?
- 8) Wie verhält sich die elektrische Spontanaktivität der V.portae in Natrium-freien Inkubationslösungen?
- 9) Welchen Effekt hat Ouabain (g-Strophantin) auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae?

2. SCHRIFTTUM

2.1. METHODEN

Die elektrophysiologischen Eigenschaften glatter Muskelzellen werden mit Hilfe von Elektroden abgeleitet. Dabei unterscheidet man folgende extrazelluläre und intrazelluläre Methoden:

1) extrazelluläre Wickelelektroden

2) extrazelluläre Pressure-Elektroden:

Mit Tyrode-Lösung gefüllte Kapillaren werden an das Gewebe angedrückt. Es werden Aktionspotentiale und slow waves gemessen. Die Spikes zeigen Werte von 3 bis 5 mV (33).

3) Saccharose-Trennwand-Methode:

Hier werden die elektrischen Parameter mittels zweier extrazellulärer Elektroden abgeleitet. Dabei befindet sich das Präparat im horizontalen Teil eines T-Röhren-Systems, wobei der Abschnitt zwischen den beiden Elektroden mit Saccharose-Lösung durchspült wird. Der hohe Widerstand der Saccharose-Lösung verhindert einen Kurzschluß zwischen den beiden Elektroden (33, 117). Die Methode wurde von HUXLEY und STÄMPFLI (66, 117) für die Erfassung elektrischer Parameter am Nerv entwickelt. BURNSTOCK und STRAUB (33) verwendeten sie als erste an glatter Muskulatur. Sie wurde mehrfach verbessert (14, 30) und 1966 von AXELSSON et al. (10) an der Rattenpfortader, zur gleichzeitigen Registrierung von mechanischer und elektrischer Aktivität, verwendet.

JOHANSSON und SOMLYO (74) betrachten absolute Werte für das Membranpotential, die mit der Saccharose-Trennwand-Methode gemessen wurden, mit großer Vorsicht. Sie beschreiben viele Möglichkeiten der Artefaktbildung. Dabei geben sie unter anderem an: Bildung von Luftblasen, Veränderungen im Flüssigkeitsfluß oder Veränderungen durch die Bewegung des Muskelpräparates. BURNSTOCK et al. (33) schätzen die Fehlermöglichkeiten durch Artefakte dagegen geringer ein. Sie geben hohe absolute Werte (-54 bis -60 mV) für das Membranpotential der *Taenia coli* des Meerschweinchens an.

4) Intrazelluläre Elektroden:

Diese Methode wurde von BÜLBRING und HOOTON (32) 1954 zum ersten Mal an glatten Muskelzellen angewendet. Die Ableitung der Potentiale erfolgt nach folgendem Prinzip: Glasmikroelektroden mit hohem Widerstand und geringem Spitzendurchmesser werden in die Zelle eingestochen. Die Potentiale werden gegen eine Bezugs Elektrode im extrazellulären Raum gemessen. JOHANSSON und SOMLYO (74) beschreiben die intrazelluläre Ableitung als einzige Methode, die verlässliche, absolute Werte über transmembranäre Potentialunterschiede und -änderungen liefern kann. BURNSTOCK et al. (33) erwähnen folgende Unsicherheitsfaktoren bei der Verwendung von intrazellulären Glasmikroelektroden:

- a) Das Ausmaß der Zellverletzung ist unbekannt.
- b) Der Einstich kann visuell nicht überwacht werden.
- d) Durch den zwangsläufigen Gebrauch hochohmiger Glasmikroelektroden kommt es zum Auftreten von sogenannten Spitzenpotentialen bei der Penetration der Zelle. Dadurch werden die Membranpotentiale zu klein gemessen.

Wie man diesen Meßfehler in Grenzen halten kann, beschreiben RIEMER et al. (107). Sie verwenden nur Glasmikroelektroden mit reduziertem Spitzenpotential.

Die intrazelluläre Technik ermöglicht neben der Messung von Potentialdifferenzen und -änderungen auch die Bestimmung weiterer elektrophysiologischer Parameter. So bestimmten ITO und KURIYAMA (68) den Membranwiderstand und die Kapazität der Membran der glatten Muskelzelle der Portalvene des Meerschweinchens nach der von ABE und TOMITA (1) beschriebenen Methode. JOHANSSON und SOMLYO (74) nennen außerdem die Möglichkeit, mittels der Glasmikroelektroden-Technik und simultaner Registrierung der mechanischen Aktivität, das Verhältnis zwischen Potential und Kraftentwicklung zu studieren. Sie weisen jedoch darauf hin, daß dabei die angestochene Zelle für alle Zellen repräsentativ sein muß, die die Kontraktion ausführen. Präparationen, die zur Vermeidung einer Dislokation

der Mikroelektrode übermäßig passiv gedehnt oder mit zwei- bis dreifach hyperosmolaren Lösungen umspült wurden, betrachten sie für derartige elektromechanische Studien als ungeeignet. GOLENHOFEN und v.LOH (60) beschreiben eine Technik der "partiellen Fixierung" des Organpräparates, um gleichzeitig die elektrische und die mechanische Aktivität zu registrieren. In ihren Ergebnissen beschreiben sie eine nur relative Korrelation zwischen dem elektrischen Aktivitätsmuster der einzelnen Zelle und der Kraftentwicklung des Gesamtpräparates.

5) Die voltage-clamp-Technik:

HODGKIN und HUXLEY (63) verwendeten diese Methode 1952 am Riesenaxon des Tintenfisches. Im Prinzip werden zwei Elektroden in eine Zelle eingestochen. Die eine dient der Messung des Membranpotentials, die andere der Zufuhr von Strom in die Zelle. Durch eine spezielle Meßanordnung wird jedem Strom, der über die Zellmembran fließt, ein entsprechender Klemmstrom entgegengesetzt. Werden diese Klemmströme gemessen, so erhält man ein Bild der transmembranären Ströme.

Bei glatten Muskelzellen sind die Bedingungen für die voltage-clamp-Technik aufgrund der Größenverhältnisse alles andere als ideal (41). Da es nahezu unmöglich ist, zwei Mikroelektroden gleichzeitig in eine glatte Muskelzelle einzustecken, begann man voltage-clamp-Untersuchungen in Verbindung mit der Saccharose-Trennwand-Technik durchzuführen (5, 6, 41, 67).

ANDERSON und RAMON (6) beschreiben die Grenzen dieser Methode: Sie halten eine genaue quantitative Analyse der transmembranären Ströme für unwahrscheinlich und empfehlen, die Ergebnisse lediglich qualitativ zu interpretieren.

2.2. SPONTANAKTIVITÄT

Viele glattmuskuläre Organe zeigen in vitro spontane mechanische Aktivität (11, 12, 55, 57, 59, 60, 68, 73, 91). Bei den Portal- und Mesenterialvenen verschiedener Spezies konnte in zahlreichen Studien belegt werden, daß diese mechanische Aktivität mit spontaner elektrischer Aktivität der glatten Muskelzellen gekoppelt ist. Untersuchungen mit mehreren blockenden Pharmaka weisen darauf hin, daß die Spontanaktivität myogenen Ursprungs ist, denn sowohl Atropin, Hexamethonium und Cocain (120), als auch Tetrodotoxin (57, 60, 68) können sie nicht aufheben. Auch adrenerge und cholinerge Blocker erweisen sich als nicht imstande, die Spontanaktivität zu unterdrücken (11). Eine Konzentration von Lidocain, die am Nerv regelmäßig zur Blockade führt, hat bei Untersuchungen von JOHANSSON und LJUNG (73) an der Portalvene der Ratte keinen Einfluß auf die mechanische und elektrische Spontanaktivität. In dieser Untersuchung wird gezeigt, daß auch die Erregungsausbreitung im glatten Muskelgewebe der Portalvene nicht über nervale Elemente läuft, sondern sich direkt von Zelle zu Zelle ausbreitet (22, 73).

CREED (40) schreibt spontan aktiven glattmuskulären Zellverbänden folgende Eigenschaften zu:

- 1) Eine Instabilität der Membran führt zum Alles-oder-Nichts-Aktionspotential.
- 2) Das Aktionspotential breitet sich von Zelle zu Zelle über Brücken mit niedrigem elektrischem Widerstand aus.
- 3) Die Spontanaktivität kann durch nervale Einflüsse modifiziert werden.

Die Mechanismen, die der myogenen Spontanaktivität zugrunde liegen, sind nicht genau bekannt. Sowohl BURNSTOCK et al. (33) als auch TOMITA (120) sehen sogenannte Schrittmacherpotentiale als Generatoren der mechanischen Spontanaktivität an. TOMITA bezweifelt die Existenz besonderer Schrittmacherzellen. Er hält es für wahrscheinlich, daß mehrere Zellen zusammen eine Schrittmacher-Region bilden, von der sich die Erregung ausbreitet (120).

Für die Entstehung der Schrittmacherpotentiale kommen folgende Mechanismen in Betracht (33):

- 1) Erhöhung der Natrium-Leitfähigkeit
- 2) Erniedrigung der Kalium-Leitfähigkeit
- 3) elektrogene metabolische Prozesse

RIEMER (105) postuliert an der *Taenia coli* für das Schrittmacherpotential den gleichen Mechanismus wie für das Aktionspotential: einen Calcium-Strom.

Die elektrische Spontanaktivität der *V. portae* des Meerschweinchens wurde von mehreren Autoren beschrieben. ITO und KURIYAMA (68) berichten von spontanen Spike-Entladungen in regelmäßigen Bursts mit Ruheintervallen oder von einer Dauer-Spikeaktivität.

GOLENHOFEN und v. LOH (60) beschreiben die Überlagerung verschiedener Rhythmen elektrischer Aktivität. Die einzelnen Bestandteile sind:

- 1) der Minuten-Rhythmus (MR) mit einer Frequenz von $0,5 - 2 \text{ min}^{-1}$, einhergehend mit Schwankungen des Membranpotentials von 5 mV
- 2) der basale organspezifische Rhythmus (BOR); er ist dem MR untergegliedert und weist Schwankungen des MP von 10 - 30 mV auf, bei einer Frequenz von $5 - 10 \text{ min}^{-1}$
- 3) der Sekunden-Rhythmus, der dem BOR überlagert ist
- 4) die Spikes, die vom Sekunden-Rhythmus getriggert werden und eine Amplitude von 40 - 60 mV haben.

2.3. MEMBRANPOTENTIAL

Das Ruhemembranpotential (RMP) glatter Muskelzellen interpretieren BURNSTOCK et al. (33) als die maximale Polarisation, die mittels Mikroelektrode gemessen wird. Im Verhältnis zum RMP der Skelettmuskulatur ist es kleiner und labiler (33). Die bisher angegebenen Werte verschiedener Arten glatter Muskelzellen reichen von etwa -25 bis -65 mV (74). Wenn die Verteilung der Ionen bekannt ist, kann der Wert des RMP nach der Goldman-Gleichung bestimmt werden (56):

$$E_D = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Na} + [Na^+]_a + P_K + [K^+]_a + P_{Cl} - [Cl^-]_i}{P_{Na} + [Na^+]_i + P_K + [K^+]_i + P_{Cl} - [Cl^-]_a}$$

Beim Vergleich zwischen diesem kalkulierten Wert und den mittels Mikroelektrode gemessenen Potentialen stellen KURIYAMA et al. (91) und CASTEELS et al. (38) Diskrepanzen fest. Sie erklären diese durch den zusätzlichen Anteil aktiver elektrogener Pumpen am Zustandekommen des RMP. Der größere Teil wird durch die passive Verteilung der Ionen K^+ , Na^+ und Cl^- aufrechterhalten.

CASTEELS et al. (38) errechneten an der Pulmonalarterie des Kaninchens ein passives Diffusionspotential durch K^+ , Na^+ und Cl^- von -31 mV. Dagegen betrug das gemessene Potential -57 mV. WAHLSTRÖM (127) fand an der Rattenpfortader, daß das RMP hauptsächlich durch die passive Verteilung von Kalium und Chlorid getragen wird. Er errechnete einen Wert von -42,3 mV nach der Goldman-Gleichung, der sich nicht wesentlich von dem gemessenen Wert von -45 mV unterschied. Ein wesentlicher Beitrag durch elektrogene Pumpen scheint demnach nicht vorzuliegen. KURIYAMA et al. (91) kalkulieren für die Pfortader des Meerschweinchens das passive Diffusionspotential auf 30 bis 40 mV, während sie für den Anteil elektrogener Pumpen 10 bis 20 mV veranschlagen.

Das RMP der Zellen der V.portae des Meerschweinchens wurde von verschiedenen Untersuchern mit Mikroelektroden gemessen. 1971 fanden ITO und KURIYAMA (68) einen Mittelwert von -37 mV, während KURIYAMA et al. (91) im gleichen Jahr -48,7 mV ermittelten.

2.3.1. Änderungen des Membranpotentials

Das Membranpotential der spontan aktiven glattmuskulären Organe - so auch der V.portae - ist keinesfalls konstant, sondern unterliegt charakteristischen Schwankungen. Diese manifestieren sich in raschen Potentialänderungen (Aktionspotentiale oder Spikes) und in langsamen Änderungen (minutenrhythmische sinusförmige Fluktuationen, Schrittmacherpotentiale und elektrotonische Potentiale) des Membranpotentials.

2.3.1.1. Aktionspotential

1969 definierte HOLMAN (64) das Aktionspotential der glatten Muskelzelle als schnelle regenerative Reaktion, die durch eine Depolarisation ausgelöst wird und zu einer Aktivierung des kontraktilellen Apparates führen kann. Diese elektrische Reaktion kann entweder vollständig oder "abortiv" sein.

BURNSTOCK et al. (33) beschreiben verschiedene Arten von Aktionspotentialen an glatten Muskelzellen, nämlich Aktionspotentiale vom Spike-Typ, die entweder als Alles-oder-Nichts-Spikes oder als komplexe Spikes mit großer Variabilität in ihrem Erscheinungsbild auftreten. Daneben erwähnen sie auch sogenannte abortive Spikes. Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit der Aktionspotentiale bei der glatten Muskelzelle ist wesentlich kleiner als bei der Skelettmuskulatur. So wurde z.B. an der *Taenia coli* des Meerschweinchens ein maximaler Wert von 13 V sec^{-1} gemessen. An der *V.portae* derselben Spezies wurden für die Anstiegsgeschwindigkeit $3,7$ (68) bzw. $4,6 \text{ V sec}^{-1}$ (91) ermittelt. Die Abstiegsgeschwindigkeit betrug dabei $2,3 \text{ V sec}^{-1}$. ITO und KURIYAMA (68) beschreiben für die *V.portae* des Meerschweinchens drei verschiedene Arten von Spikes, nämlich Spikes vom Schrittmacher-Typ mit einem Präpotential, monophasische Aktionspotentiale und Spikes mit einem Höcker in der Repolarisationsphase (spikes with a hump). Auch GOLENHOFEN und v.LOH (60) beschreiben die Variabilität der Spike-Form und finden eine Beziehung zwischen der Spike-Halbwertsdauer und der Spike-Amplitude. Je höher die Amplitude ist, desto kürzer ist die Halbwertsdauer. Für Amplituden von 60 mV finden sie Zeiten von minimal 12 Millisekunden.

2.3.1.2. Ionale Basis des Aktionspotentials

BRADING et al. (23) stellten 1969 die Hypothese auf, daß der Aktionsstrom bei der glatten Muskelzelle durch Calcium-Ionen getragen wird. Inzwischen wurden viele Studien zu diesem Problem durchgeführt. Eine endgültige Klärung steht immer noch aus. Die Aktionspotentiale von Portal- und Mesenterialvenen sind unempfindlich gegenüber Tetrodotoxin (68) und gegen eine Verminderung der extrazellulären Natriumkonzentration (12). Durch Mn^{++} oder

durch die Wegnahme von extrazellulärem Calcium kommt es zum Sistieren der elektrischen Aktivität (73). An der V.portae des Meerschweinchens führt die Anwendung des Calcium-Antagonisten Iproveratril zum Verschwinden spontaner elektrischer Aktivität (59).

UVELIUS et al. (125) ersetzten extrazelluläres Natrium durch Saccharose. Die Rattenpfortader erzeugte Aktionspotentiale, wenn im Extrazellulärraum (EZR) entweder divalente Calcium-, Strontium- oder Barium-Ionen vorhanden waren. Nach TOMITA (120) kann das Calcium-Äquilibriumpotential an glatten Muskelzellen trotz der niedrigen extrazellulären Calcium-Konzentration einen Wert von über 100 mV erreichen, da die Konzentration des freien intrazellulären Calciums zwischen 10^{-6} bis 10^{-7} mol/l liegen dürfte. Dieser Potentialwert würde ausreichen, um den Aktionsstrom zu tragen. Der relativ geringe Wert für die maximale Anstiegsgeschwindigkeit ist durch die niedrige extrazelluläre Calcium-Konzentration bedingt. Am Nerv werden Werte bis zu 500 V sec^{-1} gemessen, proportional zu der relativ hohen Konzentration an Natrium-Ionen im EZR (38).

Alle diese Untersuchungen unterstützen somit die Hypothese von BRADING et al. (23). GOLENHOFEN (57) hält es für legitim, bei glatten Muskelzellen von einem "Calcium-Spike" zu sprechen, wenn man darunter versteht, daß es sich dabei um einen besonderen Calcium-abhängigen, wahrscheinlich direkt von Calcium vermittelten, elektrogenen Prozeß handelt.

Obwohl vieles für diesen Calcium-Spike-Mechanismus spricht, besteht die Tatsache, daß einige glattemuskuläre Gewebe durch die Entfernung extrazellulären Natriums nach längeren Zeiträumen die Fähigkeit der Generation von Aktionspotentialen verlieren (91, 100). KEATINGE (81, 82, 83) untersuchte die Arteria carotis von Schafen. Diese zeigte in Inkubationslösungen mit 148 mmol/l Natrium und 2,5 mmol/l Calcium keine elektrische Aktivität. In Calcium-freier Lösung konnte KEATINGE dagegen Aktionspotentiale beobachten. Ein Ersatz des Natriums durch Tris oder Cholin führte zum Erlöschen der elektrischen Aktivität. SOMLYO

und JOHANSSON (74) vertreten die Ansicht, daß die Aktionspotentiale verschiedener Typen von glatter Muskulatur unterschiedliche ionale Grundlagen haben können.

2.3.1.3. Langsame Änderungen des Membranpotentials

Langsame Oszillationen des MP sind in vielen glattemuskulären Zellverbänden registriert worden. Laut BURNSTOCK et al. (33) sind slow waves vom Sinuswellen-Typ charakteristisch für die Längsmuskelzellen des Gastrointestinaltraktes.

Folgende verschiedene Typen langsamer Membranpotentialänderungen werden unterschieden:

- 1) die minutenrhythmischen sinusförmigen Fluktuationen weisen in der Regel 5-20 mV große Amplituden und eine Frequenz von $0,2 - 2,0 \text{ min}^{-1}$ auf. Das Membranpotential-Maximum in den Aktivitätspausen erreicht dabei Werte um -60 mV (GOLENHOFEN und v.LOH (60) Vena portae, Meerschweinchen; RIEMER (105) und TOMITA (120) Taenia coli, Meerschweinchen)
- 2) das Schrittmacherpotential, welches eine langsame, linear ansteigende Depolarisation darstellt, die bei Erreichen eines kritischen Schwellenwertes in den steilen Anstieg eines Aktionspotentials übergeht (RIEMER (105) und TOMITA (120) Taenia coli, Meerschweinchen)
- 3) das elektrotonische Potential charakterisiert durch spontane Wellen, mit einer Dauer von weniger als einer Sekunde, deren Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit und Amplitude sehr unregelmäßig sind (TOMITA (120) Taenia coli, Meerschweinchen).

Für die Pfortader des Meerschweinchens beschreiben GOLENHOFEN und v.LOH (60) eine Überlagerung folgender Rhythmen, die alle in den Bereich der langsamen Potentialänderungen gehören:

- 1) Sekunden-Rhythmus
- 2) basaler organspezifischer Rhythmus
- 3) minutenrhythmische Schwankungen
- 4) stundenrhythmische Schwankungen

2.3.1.4. Zusammenstellung intrazellulärer Meßdaten der elektrischen Aktivität von Portal- und Mesenterialvenen verschiedener Spezies

Ruhemembranpotential (RMP)

- 48,7 mV	KURIYAMA et al. (91) V.portae, Meerschweinchen
- 36,8 mV	ITO und KURIYAMA (68) V.portae, Meerschweinchen
über - 60 mV	GOLENHOFEN und v.LOH (60) V.portae, Meerschweinchen
bis - 62 mV	NAKIJAMA und HORN (99) V.mesenterica superior, Meerschweinchen

Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit

Anstieg	Abstieg	
3,7 V sec ⁻¹	--	ITO und KURIYAMA (68)
4,6 V sec ⁻¹	2,3 V sec ⁻¹	KURIYAMA et al. (91)
4,8 V sec ⁻¹	3,6 V sec ⁻¹	NAKIJAMA und HORN (99)

Amplitude der Spikes

43,4 mV (max. 56 mV)	GOLENHOFEN und v.LOH (60)
46,7 mV (max. 61 mV)	" " " "
56,0 mV (max. 62 mV)	" " " "
45,0 mV	NAKIJAMA und HORN (99)
8 bis 30 mV	FUNAKI und BOHR (55)
	V. portae, Ratte

Amplitude der slow waves

20 mV	FUNAKI und BOHR (55)
10 bis 30 mV	GOLENHOFEN und v.LOH (60)

2.4. DIE KOPPLUNG ZWISCHEN ERREGUNG UND KONTRAKTION

Es besteht allgemeine Übereinstimmung, daß die Verknüpfung von Erregung und Kontraktion durch Calcium-Ionen vermittelt wird (24, 33, 57, 71, 74, 90, 114, 115, 128). Die Erhöhung des intrazellulären Gehaltes an freien Calcium-Ionen, die schließlich zu einer Aktivierung des kontraktilen Aktomyosin-ATPase-Systems führt, erfolgt durch verschiedene Mechanismen.

Laut SOMLYO (115) kann jedoch die Existenz anderer Faktoren, die neben den Calcium-Ionen die Rolle eines Mediators spielen können, nicht ausgeschlossen werden.

In vielen Untersuchungen wurde gezeigt, daß glattmuskuläre Zellgewebe auf erregend wirkende Pharmaka reagieren, ohne daß sich ihr Membranpotential oder die Spikefrequenz ändert. So führten SOMLYO und SOMLYO (116) 1968 den Begriff der pharmakomechanischen Kopplung ein. Sie verstehen darunter Mechanismen, die den Gehalt an freien intrazellulären Calcium-Ionen erhöhen, ohne dabei die elektrischen Membranparameter zu verändern.

CASTEELS (35) hält diese von SOMLYO et al. (116) beschriebene Art der Kopplung bei der Regulation physiologischer Vorgänge in vivo für vorherrschend. Die pharmakomechanische Kopplung kann Calcium-Ionen aus verschiedenen Quellen verwenden. Rezeptorabhängige Calcium-Kanäle ermöglichen einen Einstrom von extrazellulärem Calcium, wenn z.B. α -Agonisten diese Rezeptoren besetzen (35). α -Agonisten können aber auch Calcium aus intrazellulären Speichern freisetzen, was CASTEELS (38) an der Pulmonalarterie des Kaninchens zeigte. Dabei stellte er fest, daß in Calcium-freiem Medium lediglich hohe, pharmakologische Dosen von Noradrenalin eine Kontraktion auslösen.

DROOGMANS et al. (44) fanden an der Ohrarterie des Kaninchens ein klassisches Beispiel der pharmakomechanischen Kopplung: niedrige Dosen von Noradrenalin und Histamin induzierten Kontraktionen ohne jegliche Potentialänderung.

Andere glattmuskuläre Gewebe zeigen Kontraktionen, die mit einer simultanen Änderung der elektrischen Aktivität verbunden sind.

Dabei wird allgemein zwischen zwei verschiedenen Typen unterschieden (20, 71, 74, 115):

- 1) Der erste Typ, zu dem z.B. die Pulmonalarterie und die Aorta des Kaninchens gehören, reagiert auf erregende Pharmaka mit abgestufter Depolarisation.
- 2) Der zweite Typ, der z.B. von den Mesenterial- und Portalvenen verschiedener Spezies repräsentiert wird, zeigt neben gradueller Depolarisation eine Veränderung der Spikefrequenz.

Eine Behandlung der genannten Organe mit Reserpin führt zu keiner Änderung. Ein Einfluß von Katecholaminen, die von Nervenendigungen ausgeschüttet werden, kann somit ausgeschlossen werden. Zwischen den beiden Arten besteht noch ein wesentlicher Unterschied: Typ 1 hat ein höheres und stabileres Membranpotential als Typ 2 (115).

Die elektromechanische Kopplung bedient sich potentialabhängiger Membran-Kanäle (20, 24, 71). Eine Depolarisation führt zu einem erhöhten transmembranalen Calcium-Einstrom und somit zur Kontraktion. Bei spontan aktiven glattmuskulären Geweben wird durch den Einstrom von Calcium-Ionen, die vermutlich den Aktionsstrom tragen, der intrazelluläre Calcium-Gehalt erhöht. Es besteht jedoch Einigkeit darüber, daß diese Calcium-Menge nicht ausreichen würde, um den kontraktile Apparat zu aktivieren, selbst wenn der gesamte Aktionsstrom von Calcium-Ionen getragen würde (9, 74, 114). ENDO et al. (45) vermuten, daß der Calcium-Einstrom während des Aktionspotentials als Auslöser für eine Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern dient.

Die Calcium-Ionen für die Aktivierung des Kontraktionsmechanismus können aus verschiedenen Quellen stammen. Als wichtigste Quellen werden von verschiedenen Autoren genannt (20, 24, 71, 74):

- 1) die extrazelluläre Flüssigkeit
- 2) das Sarkoplasmatische Retikulum (SR)
- 3) die Mitochondrien

POPESCU (103) nennt weitere mögliche intrazelluläre Calcium-Kompartimente:

- 4) die Mikrovesikel der Oberflächenmembran (surface microvesicles): Diese haben ein Gesamtvolumen, das mit dem des SR vergleichbar ist und verfügen über einen hohen Calcium-Gehalt.
- 5) der Nucleus: Er weist ebenfalls einen hohen Calcium-Gehalt auf.

Inwieweit das Calcium aus diesen Kompartimenten für die Aktivierung des kontraktilen Apparates zur Verfügung gestellt werden kann, bedarf noch eingehender Untersuchung. DEVINE et al. (43) konnten zeigen, daß die Fähigkeit glatter Muskelzellen, sich in Ca-freiem Medium zu kontrahieren, von der Größe ihres SR abhängt. Auch POPESCU (103) hält das SR für den wichtigsten Calcium-Speicher, während die Mitochondrien für den intrazellulären Calcium-Austausch nur eine unbedeutende Rolle spielen sollen.

Um eine Anreicherung von Calcium im Cytoplasma zu vermeiden und eine Relaxation zu ermöglichen, muß es Mechanismen geben, die die Calcium-Ionen entweder in den Extrazellulärraum befördern, oder eine Aufnahme in intrazelluläre Speicher bewirken.

Für den Transport von Calcium in den Extrazellulärraum werden folgende Möglichkeiten genannt:

- 1) ein Austausch von Calcium gegen Natrium (71), wobei für ein Calcium-Ion drei Natrium-Ionen im EZR nötig wären
- 2) eine ATP-abhängige Calcium-Pumpe, wie sie van BREEMEN et al. (26) postulieren.

Laut JOHANSSON (71) wird das Calcium zunächst in das SR aufgenommen, um eine schnelle Relaxation zu ermöglichen. Dieser Einstrom ins SR wird durch cyclo-AMP gesteuert.

POPESCU (103) hält die Mikrovesikel an der Oberflächenmembran für sehr bedeutend beim Ausschleusen von Calcium aus der Zelle. Er konnte cytochemisch die Existenz einer Ca-ATPase in den Mi-

Microvesikeln nachweisen. Außerdem stellte er fest, daß sie über räumliche Kontakte funktionell mit dem SR gekoppelt sind.

Für die Aufrechterhaltung der intrazellulären Calcium-Homöostase nennt er folgendes System:

- 1) intrazelluläre Rückverteilung unter Beteiligung des SR und eventuell der Mitochondrien und des Nucleus
- 2) Ausschleusung der Calcium-Ionen aus den intrazellulären Speichern über die Microvesikel der Oberflächenmembran mittels ATP-abhängiger Calcium-Pumpe.

2.5. DIE ABHÄNGIGKEIT DER SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN V.PORTAE VON VERSCHIEDENEN FAKTOREN

In den bisher vorwiegend mittels extrazellulärer Ableitetechniken durchgeführten elektrophysiologischen Untersuchungen an isolierten glattmuskulären Organen konnte beobachtet werden, daß die Spontanaktivität in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren charakteristischen Änderungen unterliegt.

2.5.1. Der Effekt der Osmolarität auf die Spontanaktivität

Der Effekt veränderter Osmolarität war Objekt zahlreicher Untersuchungen.

Eine intraarterielle Injektion hyperosmolarer Lösungen bewirkt eine erhöhte regionale Durchblutung. MELLANDER und seine Mitarbeiter (96) führen dies auf eine lokale Hemmung der glatten Gefäßmuskulatur zurück. Umfangreiche Experimente an der Vena portae der Ratte haben gezeigt, daß eine Erhöhung der extrazellulären Osmolarität durch Zugabe von Saccharose eine Hyperpolarisation und eine Abnahme der Spontanaktivität verursacht. Frequenz und Amplitude der spontanen Kontraktionen werden geringer (7, 72, 76, 96). In Lösungen mit stark erhöhter Osmolarität (690 mosmol/l) kommt es auch zu einer Hemmung der Erregungsausbreitung zwischen den Zellen und zu einer Entkopplung der elektrischen von der mechanischen Aktivität (73).

ARVILL et al. (7) inkubierten die Rattenpfortader in Krebs-Lösung, der 150 mmol/l Saccharose hinzugefügt worden waren. Durch Messungen mit radioaktiv markierter Saccharose (Saccharose-¹⁴C) konnten sie nachweisen, daß das Volumen der intrazellulären Flüssigkeit durch die Hyperosmolarität der extrazellulären Lösung um 34 % abnimmt.

Nach JOHANSSON (70) führen diese Ergebnisse zu dem Schluß, daß zwischen dem Volumen glatter Muskelzellen und ihrem Aktivitätsmuster eine Beziehung besteht. Schrumpfung der Zelle in hyperosmolarer Lösung ist mit Hemmung, Schwellung der Zelle in hypoosmolarer Lösung ist mit Steigerung der elektrischen und mecha-

nischen Reaktionen verbunden. JONSSON (77) erwähnt fünf Mechanismen, über die eine hyperosmolare Lösung wirken kann:

- 1) Veränderung des Kalium-Gradienten
- 2) unterschiedlich starke Veränderung der Na^+ - und der K^+ -Permeabilität
- 3) Reduktion der interzellulären Reizübertragung
- 4) Reduktion der Aktomyosin-ATPase-Aktivität
- 5) elektromechanische Entkoppelung

Den letztgenannten Effekt machten sich verschiedene Forscher zunutze, indem sie bei intrazellulären Ableitungen an glattmuskulären Zellen hyperosmolare Lösungen verwendeten. Die gewünschte Folge war eine stabilere Platzierung der Elektroden Spitze in der Zelle aufgrund reduzierter mechanischer Aktivität (68, 91).

ITO und KURIYAMA (68) inkubierten die isolierte V.portae des Meerschweinchens in einer Lösung, die durch Zugabe von 292 mmol/l Saccharose die doppelte Osmolarität wie normale KREBS-Lösung hatte. Sie ermittelten ein Membranpotential von -37 mV. KURIYAMA et al. (91) verglichen später diese Ergebnisse mit ihren Messungen in isotoner KREBS-Lösung: Die Verdoppelung der Osmolarität bewirkte eine Depolarisation der Membran. Als Ursache geben sie eine Reduktion der Membranpermeabilität für Kalium-Ionen und eine Zellschrumpfung an.

2.5.2. Der Effekt der Temperatur auf die Spontanaktivität

Spontan aktive Portal- und Mesenterialvenen verschiedener Spezies reagieren auf Erwärmung mit einer Erhöhung der Spontanaktivität. Abkühlung führt zum gegenteiligen Effekt. Die rhythmische Aktivität wird verringert und verschwindet bei niedrigen Temperaturen ganz (21, 54, 65, 101, 116, 124, 126, 129).

Das Membranpotential dieser Gefäße wird durch Temperaturvariationen folgendermaßen verändert (101, 116, 124): Temperaturerhöhung bewirkt eine Depolarisation und eine verstärkte Spikeaktivität. Durch Abkühlung wird die Spikefrequenz reduziert, und bei Erreichen der kritischen Temperatur werden keine Aktionspo-

tentiale mehr generiert. HOLMAN (65) fand an der Portalvene des Kaninchens für die kritische Temperatur einen Wert von 28°C. Bei der Untersuchung von aviären Mesenterialarterien (19) sowie von Rattenportalvenen (93) stellte sich heraus, daß bei niedrigen Temperaturen die Weiterleitung der Aktionspotentiale von Zelle zu Zelle und die Ausbreitung elektrotonischer Potentiale verlangsamt sind.

KURIYAMA et al. (91) untersuchten die V.portae des Meerschweinchens mittels intrazellulärer Mikroelektroden. Sowohl in isotoner als auch in hypertoner Lösung bewirkte die Abkühlung des Präparates eine Depolarisation. Im einzelnen fanden sich bei verschiedenen Temperaturen folgende Werte des RMP:

<u>Temperatur</u> (°C)	<u>RMP</u> (mV)
34,5 - 35,5	- 50,4 $\pm$ 3,1
24,5 - 25,5	- 41,2 $\pm$ 2,8
19,5 - 20,5	- 33,4 $\pm$ 4,6
4,5 - 5,5	- 31,2 $\pm$ 2,8

Über das Verhalten der AP-Frequenz finden sich keine Angaben bei KURIYAMA et al.

LJUNG und STAGE (93) führten anhand der Saccharose-Trennwand-Technik elektrophysiologische Untersuchungen an der V.portae der Ratte durch. Deren Reaktionen auf Noradrenalin waren bei 25°C und 37°C ähnlich. Bei niedrigen Temperaturen waren die Spikekomplexe besser synchronisiert.

Mittels intrazellulärer Ableitung fanden GOLENHOFEN und v.LOH (61) an der Taenia coli des Meerschweinchens folgende Ergebnisse bei einer stufenweisen Temperaturabsenkung, ausgehend von 35°C: Die Spikeentladungen zeigten eine kontinuierliche Abnahme der Folgefrequenz. Die Minutenrhythmik war auffallend resistent gegen niedrige Temperaturen. Bei 15°C erlosch die Spontanaktivität.

RIEMER (105) arbeitete mit der gleichen Technik ebenfalls an der Taenia coli. Im Temperaturbereich von 19°C bis 31°C fand

er keine Minutenrhythmik. Bei Temperaturen über 31°C zeigten einige Präparate minutenrhythmische Modulation, während andere auch hier durch Dauerspikeaktivität auffielen. Das Membranpotential nahm von 19 bis 31°C linear zu. Von 32°C bis 37°C konnte dagegen keine signifikante Korrelation zwischen Temperatur und MP gefunden werden. Die Spike-Frequenz erhöhte sich mit zunehmender Erwärmung. Die kritische Temperatur, bei der die elektrische Aktivität erlosch, lag bei 17,8°C.

2.5.3. Der Effekt der extrazellulären Calcium-Konzentration auf die Spontanaktivität

Für die Studien an isolierten glattmuskulären Organen werden Inkubationslösungen mit teilweise unterschiedlichen Calcium-Konzentrationen verwendet. Die häufig angewandte KREBS-Lösung enthält 2,5 mmol/l CaCl_2 . Dagegen benützen ROSENBERGER und TRIGGLE (109), sowie SWAMY et al. (118) z.B. Tyrode-Lösung mit 1,8 mmol/l CaCl_2 .

Einige Forscher untersuchten den Effekt veränderter Calcium-Konzentrationen im Inkubationsmedium (12, 15, 125). So fanden AXELSSON et al. (12) an der Rattenpfortader mittels der Saccharose-Trennwand-Methode, daß eine Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration auf 5 mmol/l eine leichte Hyperpolarisation der Membran bewirkte. Die Burstfrequenz war verringert, während die Burstdauer fast auf das Doppelte anstieg; die Burstintervalle waren bis zu 50 % verlängert. Die Inkubation der Portalvene in nominell Calcium-freier Lösung verursachte zunächst eine erhöhte Spikeentladungsfrequenz und verkürzte die Burstdauer zusehends, bis nur noch einzelne Spikes auftraten. Schließlich erlosch sowohl die elektrische, als auch die mechanische Aktivität.

UVELIUS et al. (125) fügten nominell Calcium-freier Lösung 1 mmol/l EGTA hinzu und erreichten dadurch eine Calcium-Konzentration unter 10^{-6} mmol/l in der Inkubationslösung. Die Rattenpfortader verlor in dieser Lösung jegliche phasische Aktivität und zeigte eine leichte Depolarisation. Die sukzessive Steigerung der Calcium-Konzentration führte zu folgendem Ergebnis:

- 1) bei 0,5 mmol/l CaCl_2 : Repolarisation und Auftreten frequenter Einzelspikes
- 2) bei 1,0 mmol/l CaCl_2 : Auftreten von längeren Bursts, unterbrochen von Ruheperioden
- 3) bei 2,5 mmol/l CaCl_2 : Regeneration des normalen Aktivitätsmusters
- 4) bei 10,0 mmol/l CaCl_2 : leichte Hyperpolarisation, Verlängerung der Ruheintervalle sowie Verkürzung der Burstdauer

Diese Resultate wurden ebenfalls mit der Saccharose-Trennwand-Technik gewonnen.

2.5.4. Die Wirkungsweise der Calcium-Antagonisten

Die verschiedenen transmembranären Ionenströme können durch selektive Inhibitoren gehemmt werden. Tetrodotoxin hemmt den Na^+ -Strom, Tetraäthylammonium vermag die K^+ -Kanäle zu blockieren. Als spezifische Ca-Antagonisten wurden vor allem die Substanzen Verapamil, D 600 und Nifedipin beschrieben (49, 50, 51, 52, 53, 58, 59, 62, 85, 97, 106, 121). Der genaue Wirkungsmechanismus und Angriffsort dieser Ca-Antagonisten ist vor allem in bezug auf die glatte Gefäßmuskulatur nicht hinreichend geklärt. Ihre experimentelle Anwendung ist sinnvoll bei der Klärung der Bedeutung der Ca-Ionen für die glatte Gefäßmuskelzelle.

Am Myokard wurden die Ca-Antagonisten umfassend von FLECKENSTEIN et al. (49, 50, 51, 52, 53, 62, 85) untersucht. Demnach hemmen die Ca-Antagonisten den transmembranären Ca^{++} -Influx in die erregten Myokardfasern, ohne den gleichzeitigen Na^+ -Einstrom oder den K^+ -Ausstrom während des Aktionspotentials merklich zu stören.

Anhand von voltage-clamp-Studien konnten KOHLHARDT et al. (85) diese These für D 600, Verapamil und Nifedipin untermauern. Sie stellten daneben fest, daß die Inhibition des Ca^{++} -Einstromes durch die Erhöhung der extrazellulären Ca-Konzentration antagonisiert werden konnte.

Laut FLECKENSTEIN (50) besetzen die Ca-Antagonisten die langsamen Ca^{++} -Kanäle der Myokardzellmembran. An der glatten Muskulatur hemmen die Ca-Antagonisten neben der elektromechanischen Kopplung auch die elektrische Erregung der Membran, nämlich das fortgeleitete Aktionspotential (50, 51, 58, 59, 106). So fanden FLECKENSTEIN et al. (51) am Rattenuterus, RIEMER et al. (106) an der Taenia coli und HERMSTEIN (58) an der Vena portae des Meerschweinchens, daß durch Verapamil (51, 106), D 600 (51, 58) und Nifedipin (51) die spontane Impulsgeneration (Spikegeneration) bereits in einem Konzentrationsbereich gehemmt wird, der für die Blockade der elektromechanischen Kopplung nicht ausreichen würde.

Laut Untersuchungen von RIEMER et al. (106) an der Taenia coli des Meerschweinchens unterdrückt Verapamil die Amplitude spontaner und Kalium-induzierter Kontraktionen. Es besteht ein kompetitiver Antagonismus zwischen Verapamil und Ca-Ionen. Ein Molekül Verapamil antagonisiert dabei 8000 Ca-Ionen. Die Verminderung der Kontraktilität wird verursacht durch eine Frequenzabnahme der Aktionspotentiale. Das Membranpotential und die langsamen Potentialänderungen (slow waves) werden von Verapamil nur wenig beeinflusst. Durch Erhöhung der extrazellulären Ca-Konzentration konnte auch hier die Wirkung vollständig aufgehoben werden.

GOLENHOFEN et al. (59) untersuchten die Verapamil-Wirkung auf die durch Noradrenalin bzw. KCl depolarisierte Pfortader des Meerschweinchens. Verapamil blockiert in beiden Fällen die Spike-Komponente, während die Depolarisation bestehen blieb. Die Spannungsentwicklung wurde dagegen unterschiedlich beeinflusst. Die durch KCl induzierten Kontraktionen wurden durch Verapamil vollständig unterdrückt, während die durch Noradrenalin induzierte Kraft nur auf 40 % des Ausgangswertes sank. GOLENHOFEN et al. (58, 59) schließen daraus, daß neben dem Spikemechanismus, der sowohl durch KCl als auch durch Noradrenalin ausgelöst wird, beim Noradrenalin noch ein weiterer Mechanismus beteiligt ist, der durch Ca-Antagonisten nicht

gehemmt werden kann. GOLENHOFEN unterscheidet folglich zwischen:

- Spike-Aktivierungsmechanismus (SAM) und
- Spike-freiem Aktivierungsmechanismus (SFAM).

MIKKELSEN et al. (97) untersuchten humane Mesenterialvenen und -arterien. Nifedipin und Verapamil relaxierten sowohl durch Noradrenalin als auch durch KCl kontrahierte Venen und Arterien, wenn sie 15 Minuten vor den Stimulatoren gegeben wurden. Laut MIKKELSEN (97) greifen Verapamil und Nifedipin auch intrazelluläre Strukturen an. Untersuchungen von FLECKENSTEIN et al. (52) zeigen dagegen, daß die Wirkung der Ca-Antagonisten nach Zerstörung der Zellmembran verloren geht.

TRIGGLE und SWAMY (121) bezeichnen D 600, Verapamil und Nifedipin als Ca^{++} -Kanal-Antagonisten, die an der glatten Gefäßmuskulatur Agonist-induzierte (Noradrenalin) Kontraktionen non-kompetitiv und Calcium-induzierte kompetitiv hemmen.

Die Wirkstärke des Nifedipin ist beträchtlich höher als die des Verapamil (97). Es ist somit der potenteste der bisher bekannten Ca-Antagonisten.

2.5.5. Die Wirkungsweise der Lokalanästhetika

Die Lokalanästhetika (LA) blockieren reversibel die Erregungsausbreitung in Nervenfasern. In diesem Bereich liegt deshalb auch ihre weiteste klinische Anwendung. Dabei können aber unerwünschte systemische Wirkungen auftreten, da die LA grundsätzlich jede erregbare Membran beeinflussen können. In Frage kommen hierbei besonders das ZNS, das Herz und die glatte Muskulatur des Gefäßsystems.

Die Wirkung der LA auf die glatte Gefäßmuskulatur wurde vielfach als Vasodilatation angesehen. Dies begründete sich auf die Beobachtung, daß es nach toxischen Dosen von LA zum kardiovaskulären Kollaps kam (17). In verschiedenen in vivo- und in vitro-Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, daß die LA auch vasokonstriktorische Eigenschaften haben. So verursachte

Lignocain an der isolierten Rattenpfortader (8), Procain an der isolierten Katzenpfortader (11) und Mepivacain an der isolierten Rattenpfortader (3) eine Erhöhung des basalen Gefäßtonus.

Die LA Mepivacain, Bupivacain und Tetracain wurden eingehend an der spontan aktiven Rattenportalvene untersucht (2, 3). Dabei ergab sich für diese LA folgendes übereinstimmendes Bild:

- 1) In niedrigen Konzentrationen erhöhen die LA die Kontraktionsamplitude und die Kontraktionsfrequenz.
- 2) Höhere Dosierungen führen zu einer Erhöhung des Basaltonus mit überlagerten phasischen Kontraktionen.
- 3) Eine weitere Steigerung der Konzentration läßt den Basaltonus noch weiter ansteigen.
- 4) Erst ganz hohe Dosierungen führen zu einer vollständigen Hemmung jeglicher Aktivität (Erschlaffung).

Bei den Untersuchungen von ABERG und WAHLSTRÖM (3) an der Rattenpfortader mittels der Saccharose-Trennwand-Technik wurde auch die Veränderung elektrischer Parameter durch Mepivacain erfaßt. Dabei stellte sich heraus, daß die Effekte der LA auf die Kontraktilität nicht genau korreliert waren mit den Änderungen der elektrischen Parameter. Initiale Wirkkonzentrationen von Mepivacain erhöhten die mechanische Aktivität, ohne die Spike-Aktivität zu beeinflussen. Paradoxe Weise erhöhte sich diese wiederum, als das Gefäß bei hohen Dosen von Mepivacain zu erschlaffen begann. Das Ruhemembranpotential wurde nicht signifikant verändert. Laut ABERG und ANDERSSON (2) kann die relaxierende Wirkung von hohen Dosen Mepivacain durch eine Erhöhung des extrazellulären Calcium-Spiegels aufgehoben werden. Die Calcium-Ionen können dabei auch durch bivalente Ba- oder Sr-Ionen ersetzt werden.

Der dosisabhängige Effekt der LA auf die glatte Gefäßmuskulatur scheint mit transmembranären Calcium-Bewegungen gekoppelt zu sein. Daß die LA an den Ca-Speichern der glatten Muskelzel-

len angreifen, wird laut BLAIR (17) durch folgende Tatsachen unterstützt:

- 1) LA vermindern die Aufnahme von radioaktiven Ca-Ionen an der *Taenia coli*.
- 2) LA wirken kompetitiv antagonistisch auf die kontraktile Effekte von Ca-Ionen an der durch KCl depolarisierten Pfortader.

BLAIR (17) erklärt den vasokonstriktorischen Effekt der LA durch eine Verdrängung des Calciums von der Membran und eine dadurch bedingte Erhöhung des intrazellulären Ca^{++} -Spiegels.

COVINO und VASSALLO (39) entdeckten 1976 ebenfalls einen biphasischen Effekt der LA an der glatten Gefäßmuskulatur. Sie fanden bei den einzelnen LA Unterschiede in ihrer Wirkungsqualität und Wirkstärke. Während Prilocain, Mepivacain und Procain eine starke Erhöhung des Basaltonus verursachten, wurde dieser durch Lidocain, Tetracain, Bupivacain und Etidocain nur wenig beeinflusst. Sie beschreiben neben anderen Autoren (17, 46, 47, 48) einen kompetitiven Antagonismus zwischen LA und Calcium-Ionen. Die LA verdrängen Ca-Ionen von ihren Bindungsstellen an der Membran. Dabei sind für ein Ca-Ion zwei LA-Moleküle nötig (113).

Laut MADEIRA und CARVALHO (94) ist die Fähigkeit der LA, Ca-Ionen von ihrer Membranbindungsstelle zu verdrängen, proportional zu ihrer anästhetischen Potenz.

Die LA hemmen am Nerv vor allem die Leitfähigkeit für Natrium-Ionen und in geringerem Maß für Kalium-Ionen. Dies führt zu der AP-Blockade am Nerv. Calcium-Ionen und LA wirken am Nerv membran-stabilisierend (110).

Nach Untersuchungen von ITO et al. (69) führen die LA an der glatten Muskulatur der Hauptpulmonalarterie des Kaninchens zu einer erhöhten Erregbarkeit der Membran. Die Membran wird durch LA depolarisiert, und es kommt zu einer verstärkten Spike-Generation. In elektrophysiologischen Untersuchungen der Procainwirkung an der glatten Muskulatur der Harnblase des Meer-

schweinchens fanden KURIHARA et al. (86, 87, 88) folgende Ergebnisse: Procain (in Konzentrationen von 1,7 und 15 mmol/l) depolarisiert die Membran und erhöht die spontane Spike-Frequenz. Die Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Aktionspotentiale wird vermindert. Diese Wirkung des Procain kann durch eine Erhöhung des extrazellulären Ca-Gehaltes von 2,5 auf 7,5 mmol/l antagonisiert werden.

FEINSTEIN et al. (46, 47, 48) bestätigten den kompetitiven Antagonismus zwischen LA und Ca-Ionen bei ihren Experimenten am Rattenuterus. Die LA entfalten ihre Wirkung nicht nur an der Zellmembran, sondern sie können auch isolierte intrazelluläre Membranstrukturen beeinflussen. So konnten JOHNSSON und INESI (75) am fragmentierten Sarkoplasmatischen Retikulum des Kaninchen-Skelettmuskels zeigen, daß Tetracain, Procain und Lidocain eine Ca-Akkumulation verhindern. Dabei erwies sich Tetracain als zehnfach stärker wirksam als Procain und Lidocain.

2.5.6. Die Wirkungsweise von Tocainid

Tocainid ist ein Derivat des Lidocain, von dem es sich durch ein anderes pharmakodynamisches Verhalten unterscheidet. Klinische und experimentelle Untersuchungen befaßten sich vor allem mit der Wirkung des Tocainid auf verschiedene Strukturen des Herzens. Als Antiarrhythmikum scheint das Tocainid speziell Arrhythmien zu regulieren, die auf einer gesteigerten Automatie im Purkinjefasersystem beruhen (102).

DENGLER und RÜDEL (42) untersuchten den Effekt von 5×10^{-4} mol/l Tocainid auf den isolierten Zwerchfellmuskelstreifen der Ratte. Die intrazellulären Messungen an diesem quergestreiften Muskelpräparat ergaben dabei, daß das Ruhemembranpotential durch Tocainid nicht beeinflußt wurde. Die maximale Amplitude, die Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Aktionspotentiale waren reduziert, während ihre Dauer eine Verlängerung erfuhr.

WINKLE et al. (130) untersuchten das Tocainid bei Patienten mit Linksherzinsuffizienz. Eine intravenöse Gabe von 0,5 bis

0,75 mg Tocainid/kg/min verursachte einen leichten Anstieg des peripheren Widerstandes und des arteriellen Druckes. Die Herzleistung wurde nicht signifikant verändert.

2.5.7. Die Wirkung von Calcium-selektiven Ionophoren

Ca-selektive Ionophoren werden experimentell angewendet, um transmembranäre Calcium-Bewegungen zu studieren. Die wesentliche Eigenschaft einer Ionophore ist ihre Selektivität für Calcium-Ionen.

Die Ionophoren X-537 und A 23187 wurden an verschiedenen biologischen und künstlichen Membranen untersucht. KAFKA und HOLZ (78) erprobten X-537 und A 23187 an einer künstlichen Lipidmembran, die für Calcium unter Normalbedingungen impermeabel war. Durch Hinzufügen der Ionophore entstand eine beachtliche Permeabilität dieser Membran für Calcium-Ionen.

ROSENBERGER und TRIGGLE (109) verwendeten die Ionophore A 23187 an der Longitudinalmuskulatur des Meerschweinchen-Ileums. Sie stellten fest, daß die Induktion von phasischen und tonischen Kontraktionen durch die Ionophore sowohl von der extrazellulären Ca-Konzentration als auch von der extrazellulären Na-Konzentration abhängig war. Lag letztere unter 30 mmol/l, so war die Ionophore wirkungslos. Anhand der Lanthanum-Methode wiesen ROSENBERGER et al. (109) in ihren Studien eine erhöhte Netto-Ca-Aufnahme der Zelle unter dem Einfluß der Ionophore A 23187 nach. Durch die Ca-Kanal-Antagonisten D 600 und Nifedipin konnte diese Aufnahme gehemmt werden. ROSENBERGER und TRIGGLE (109) entwickelten daraus folgende Modellvorstellung für die Wirkung Ca-selektiver Ionophoren: Über eine Änderung des Na^+ -Gradienten wird die Membran depolarisiert und potential-gesteuerte Ca^{++} -Kanäle ermöglichen einen erhöhten Ca^{++} -Einstrom.

MANDREK und GOLENHOFEN (95) untersuchten die Ionophore A 23187 an verschiedenen isolierten glattemuskulären Organen. Am Magenfundus und an der Taenia coli des Meerschweinchens führte eine Konzentration der Ionophore A 23187 von 10^{-7} mol/l zu einem

maximalen Spannungsanstieg. Eine Konzentration von 2×10^{-6} mol/l erzeugte an der V.portae des Meerschweinchens Kontraktionen, die 30 bis 50 % der Spannung erreichten, die durch 5×10^{-5} mol/l Noradrenalin induziert wird.

An isolierten glatten Muskelzellen der Magenmuskulatur des *Bufo marinus* fanden MURRAY und seine Mitarbeiter (98), daß die Ionophore A 23187 in einer Konzentration von 5×10^{-6} mol/l eine maximale und bei 5×10^{-7} mol/l eine halbmaximale Kontraktion erzeugt. Die erste Phase der Kontraktion konnte durch Entfernung des Calciums aus dem EZR (EGTA-Chelatbildung) nicht beeinflusst werden. Die zweite Phase dagegen wurde durch diese Maßnahme vollständig unterdrückt und durch erneute Zugabe extrazellulären Calciums regeneriert. MURRAY (98) schloß daraus, daß A 23187 in der ersten Phase intrazellulär gebundenes Calcium freisetzt. Andere Forscher (ROSENBERGER und TRIGGLE (109) am Meerschweinchen-Ileum, sowie MANDREK und GOLENHOFEN (95) am Meerschweinchenmagen) halten eine Freisetzung intrazellulären Calciums durch die Ionophore A 23187 ebenfalls für möglich, da bestimmte Anteile der induzierten Kontraktionen von der Anwesenheit extrazellulären Calciums unabhängig waren (108), oder durch die Applikation der Ca-Antagonisten Verapamil und D 600 nicht gehemmt werden konnten (95).

Zur Überprüfung, ob die Ionophore mittels Freisetzung endogener Transmitter wirkt, wurden folgende Substanzen eingesetzt: Atropin (95, 118), Phentolamin (95), Histamin- und 5-Hydroxytryptamin-Antagonisten (118). Keiner dieser Stoffe hatte einen Einfluß auf die durch die Ionophore A 23187 induzierten Kontraktionen. Eine Beteiligung endogener Stoffe konnte somit ausgeschlossen werden. Die Ionophore A 23187 scheint an den untersuchten Präparaten (Ileummuskulatur, Magen und *Taenia coli* des Meerschweinchens) direkt den transmembranären Calcium-Transport zu beeinflussen.

Mecamylamin, welches in der Lage ist, KCl-induzierte Kontraktionen zu verhindern, konnte die durch die Ionophore A 23187 ausgelösten Kontraktionen nicht verhindern. SWAMY et al. (118)

schlossen daraus, daß aus diesem Grund eine Depolarisation als möglicher Wirkungsmechanismus der Ionophore nicht infrage kommt. Auch andere Autoren (78, 108) vermuten, daß der Calcium-Transport mittels Ionophore elektroneutral abläuft.

Die Ionophore A 23187 zeigte in einigen Untersuchungen keine optimale Selektivität für Ca-Ionen (109, 122). UMEN und SCARPA (122) entwickelten neue, synthetische Ionophoren, die diese Bedingung besser erfüllen sollen.

2.5.8. Natrium-Calcium-Wechselbeziehungen

In vielen Untersuchungen wurde ein Einfluß der extrazellulären Natriumkonzentration auf die Kontraktilität der glatten Muskulatur gefunden (15, 24, 125). BIAMINO und JOHANSSON (15) ersetzten bei ihren Experimenten an der V. portae der Ratte das gesamte Natrium in der Inkubationslösung durch Saccharose. Sie fanden eine tetanische Kontraktion begleitet von hoher Spike-Frequenz. Die Kontraktion dauerte aber nicht an. Die Pfortader erschlaffte schließlich. Diese Relaxation führten BIAMINO und JOHANSSON (15) auf eine Hyperpolarisation der Membran zurück. Die Ableitung des Membranpotentials erfolgte anhand der Saccharose-Trennwand-Methode. Dabei konnten Spikes in Natrium-freier, Chlorid-arme Lösung beobachtet werden, wenn der Calciumspiegel einerseits niedrig genug war, um eine Membranstabilisierung zu verhindern, und andererseits hoch genug war, um den Aktionsstrom zu tragen.

BLAUSTEIN (18) führte seine Untersuchungen an isolierten arteriellen Gefäßen durch. Ein Ersatz des extrazellulären Natriums durch Lithium, Cholin oder Saccharose führte zur Induktion von reversiblen Kontraktionen. Diese Kontraktionen waren verbunden mit einem Netto-Gewinn des Gewebes an Calcium. BLAUSTEIN erklärt dies durch einen erhöhten Calcium-Einstrom verbunden mit einem gehemmten Calcium-Ausstrom. BRIGGS und MELVIN (27) führten Ca^{++} -Flux-Messungen an der Kaninchenaorta bei verschiedenen Na^{+} -Konzentrationen durch.

Wurde das Natrium auf 31 mmol/l im EZR vermindert und osmotisch durch Saccharose oder Cholinchlorid substituiert, so erhöhte sich der ^{45}Ca -Einstrom auf das 3,2-fache. Dies war verbunden mit einer Kontraktion.

BIAMINO und JOHANSSON (15) geben an, daß Natrium die transmembranären Calcium-Bewegungen in beide Richtungen erleichtere, für den Ca^{++} -Ausstrom gegen den Gradienten aber wesentlich wichtiger sei als für den Ca^{++} -Einstrom.

BLAUSTEIN (18) postuliert, daß die Calcium-Ausschleusung an einen Natrium-Einstrom gekoppelt ist. Der hohe Natrium-Gradient liefert demnach die Energie, die für den Transport des Calciums gegen ein Konzentrationsgefälle (EZR/IZR) notwendig ist.

REUTER et al. (104) unterstützten diese These. Sie bestimmten den ^{45}Ca -Efflux an der Kaninchen-Aorta nach einer Substitution des Natriums durch Cholin. Sie benutzten ein Auswaschmedium, das 0,4 mmol/l LaCl_3 oder 0,5 mmol/l EGTA enthielt. Der ^{45}Ca -Efflux war nun um ein Drittel vermindert. Zugabe von Natrium konnte den Calcium-Ausstrom wieder erhöhen. REUTER, BLAUSTEIN und HÄUSLER (104) werteten dies als Beweis für die Existenz einer gekoppelten $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Pumpe. Dabei sollen jeweils drei Na-Ionen gegen ein Ca-Ion ausgetauscht werden (18).

Van BREEMEN und seine Arbeitsgruppe (24, 25) bezweifeln die alleinige Abhängigkeit der Calcium-Ausschleusung vom Na^+ -Gradienten. Sie plädieren für eine ATP-abhängige Ca^{++} -Extraktionspumpe, deren Wirksamkeit durch Natrium-Ionen beeinflusst werden kann.

Zusammenfassend nennt van BREEMEN folgende Stellen, an denen das Natrium die Calcium-Bewegungen beeinflussen kann:

- 1) die ATP-abhängige Ca^{++} -Pumpe der Zellmembran
- 2) Ca^{++} -Bindungsstellen an der Innenseite der Zellmembran
- 3) passive Ca^{++} -Membran-Kanäle
- 4) verschiedene Ca^{++} -Bindungsstellen des SR
- 5) verschiedene Ca^{++} -Bindungsstellen der Mitochondrien
- 6) Ca^{++} -Bindungsstellen am kontraktilen Apparat
- 7) autonome Nervenendigungen

Die Interaktionsmöglichkeiten sind also sehr komplex und bedürfen weiterer Klärung, vor allem im Hinblick auf die Bedeutung des Natriums bei der Ätiologie der Hypertonie, die auch im Report of the Hypertension Task Force (123) als ungeklärte Fragestellung hervorgehoben wird.

2.5.9. Die Wirkungsweise von Ouabain

Ouabain (g-Strophanthin) gehört zur Gruppe der Herzglykoside. Diese hemmen an der Myokardzelle die gekoppelte Natrium/Kalium-Pumpe.

Der Effekt des Ouabain wurde bisher vor allem an arteriellen Gefäßmuskeln erforscht. Die Gabe von Ouabain bewirkt im allgemeinen eine Vasokonstriktion (28, 104).

LANG und BLAUSTEIN (92) maßen den arteriellen Druck an isolierten, perfundierten Hintergliedmaßen von Ratten. Ouabain bewirkte eine Erhöhung des arteriellen Druckes. BROEKAERT und GODFRAIND (29) induzierten mit 1×10^{-5} mol/l Ouabain Kontraktionen an Arterien von Kaninchen und an der Aorta des Meerschweinchens. Durch Zugabe von Phentolamin (α -Blockade) konnten die Kontraktionen der Kaninchenarterien, nicht jedoch die der Aorta des Meerschweinchens gehemmt werden. KARAKI und URAKAWA (80) sahen an der Aorta des Kaninchens die gleichen Resultate. Nach α -Blockade durch Phentolamin oder Phenoxybenzamin bzw. nach vorher erfolgter Reserpinisierung der Kaninchen vermochte Ouabain keine Kontraktion mehr zu induzieren. Durch Ouabain ausgelöste Kontraktionen des Vas deferens des Meerschweinchens wurden ebenfalls durch Vorbehandlung mit Reserpin oder durch Phentolamin antagonisiert.

KARAKI et al. (79) untersuchten u.a. die Portal-Mesenterialvenen des Meerschweinchens. 2×10^{-5} mol/l Ouabain beschleunigte zunächst die Frequenz der spontanen Kontraktionen und erhöhte dann den Basaltonus. Dieser kehrte später langsam zum Kontrollwert zurück, die rhythmischen Kontraktionen verschwanden, und eine einzelne flüchtige Kontraktion folgte. Nur diese konnte durch Phentolamin verhindert werden, nicht aber die vorher beschriebenen Ereignisse.

TODA (119) fand unterschiedliche Reaktionen verschiedener Gefäße. Ouabain erzeugte dosisabhängige Kontraktionen (an Gehirn-, Mesenterial- und Femoralarterien von Hunden und Affen), welche in Ca-freiem Medium verschwanden. Nach α -Blockade blieben lediglich die Kontraktionen der Gehirnarterien unbeeinflusst, während sie bei den anderen Gefäßen gehemmt wurden.

BELARDINELLI et al. (13) führten elektrophysiologische Studien an den Koronararterien des Hundes durch. Herzglykoside wie Ouabain erhöhten die Amplitude und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit der Aktionspotentiale.

KURIYAMA et al. (91) untersuchten die Wirkung von Ouabain ($5,3 \times 10^{-6}$ mol/l) auf die elektrische Aktivität der Portalvene des Meerschweinchens mit intrazellulären Mikroelektroden. Ouabain depolarisierte die Membran, erhöhte die Spikefrequenz und führte später zu einem Sistieren der Spikeaktivität durch einen Depolarisationsblock. Die Wirkung des Ouabain war dabei reversibel.

Nach einem Postulat von ANDERSON (4) ist das Ruhemembranpotential nur zu einem Teil das Ergebnis von ionalen Diffusionsprozessen. Der andere, kleinere Teil resultiert dagegen aus einer elektrogenen Natrium-Pumpe. Dieser Anteil wird durch Ouabain antagonisiert und eine Depolarisation des Membranpotentials ist die Folge. Die Aktivierung der elektrogenen Pumpe durch eine mäßige Erhöhung der extrazellulären Kalium-Konzentration, die bei manchen Gefäßen zu einer Vasodilatation führt, wird durch Ouabain verhindert.

Zusammenfassend ergibt sich folgendes Bild für den Wirkungsmechanismus des Ouabain an der glatten Gefäßmuskulatur:

- 1) An einigen glattemuskulären Präparaten induziert Ouabain eine Kontraktion über die Freisetzung von Noradrenalin aus Nervenendigungen mit nachfolgender Stimulierung von α -adrenergen Rezeptoren (79, 119).
- 2) An anderen Präparaten hemmt Ouabain direkt die ATP-abhängige Natrium-Kalium-Pumpe (79, 92, 119).

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. PRÄPARATION

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an der V.portae des Meerschweinchens durchgeführt. Die Tiere (♂; Körpergewicht 400-500 g) wurden durch Nackenschlag getötet. Nach Öffnung der Bauchhöhle wurde die V.portae unter ständiger Umspülung mit KREBS-Lösung sorgfältig von Binde- und Fettgewebe befreit. Etwa zwei Zentimeter vom Leberansatz entfernt wurde die Pfortader mit Seide umschlungen und abgebunden. Anschließend wurde das Gefäßlumen durch einen Scherenschlag geöffnet und ein Plexiglashalter vorsichtig in das Lumen eingeführt. Dieser Präparatehalter (Abb.1) bestand aus einem Plexiglasplättchen mit einer in den Rand eingefrästen Nut. Das Plättchen war auf einem rechteckigen Plexiglassteg befestigt. Am vorderen Ende des in der Pfortader befindlichen Trägers wurde das Gefäßlumen horizontal durchstoßen und ein Seidenfaden durchgezogen. Mit diesem wurde das Gewebe in der zirkulären Nut festgebunden. Durch diese Art der Fixierung wurde erreicht, daß das Gewebe einerseits fest genug fixiert war, um eine Dislokation der Elektrodenspitze während der Kontraktion des Präparates zu vermeiden, andererseits war der vordere Teil des auf dem Halter befindlichen Gewebes frei beweglich und somit an den gemessenen Kontraktionen beteiligt. Dies war Voraussetzung für eine gleichzeitige Registrierung der mechanischen und der elektrischen Aktivität. Das Präparat wurde nun aus dem Situs entfernt und sofort im Organbad mit einer Schraube am Boden fixiert. Das freie Ende wurde mit dem Seidenfaden an dem mechanoelektrischen Transduktor zur isometrischen Kraftmessung befestigt (Abb. 2).

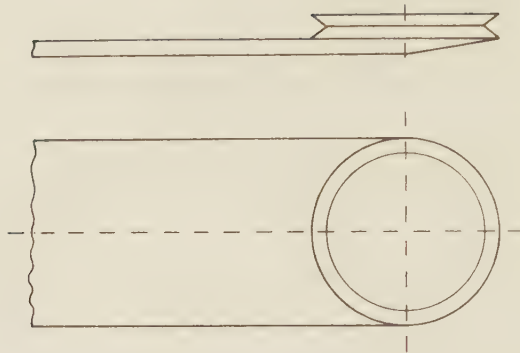


Abb. 1: Die Abbildung zeigt den Präparatehalter im Querschnitt (oben) und in der Draufsicht (unten)

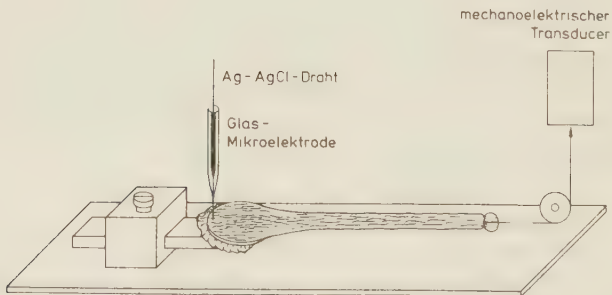


Abb. 2: Die Abbildung zeigt schematisch die Befestigung der präparierten Pfortader zwischen Präparatehalter und Transducer.

3.2. GLASMIKROELEKTRODEN

Der Querdurchmesser glatter Muskelzellen beträgt in der Kern-region nur 5 - 7 μm , daher müssen die Mikroelektroden zur intra-zellulären Potentialableitung sehr kleine Spitzendurchmesser haben. So wird eine erfolgreiche Penetration der Zellmembran ge-währleistet. Daneben müssen die Spitzen lang und elastisch sein, damit sie bei Kontraktion des Gewebes beweglich sind und nicht zu einer Zerreissung der Zellmembran führen bzw. nicht aus der Zelle disloziert werden. Die Mikroelektroden wurden mit einem automatischen Elektrodenziehgerät aus Glaskapillaren (Außen-durchmesser 1,0 mm, Innendurchmesser 0,5 mm) gezogen. Durch Variationen der Heizspannung und der Zugstärke konnten Mikro-elektroden mit beliebigen Spitzenlängen und -durchmessern her-gestellt werden. Die zur Ableitung verwendeten Elektroden hat-ten Spitzendurchmesser von 0,2 bis 0,5 μm . Sie wurden mit 3-mo-larer KCl-Lösung gefüllt. Ihr elektrischer Innenwiderstand be-trug 20 bis 40 Megohm. Die Elektroden wurden mit einem dreidi-mensionalen Mikromanipulator unter Sichtkontrolle durch eine Stereomikroskop (Zeiss) an die Oberfläche des Gewebes herange-bracht. Durch vorsichtiges Drehen der Mikrometerschraube wurde die Elektrode in das Gewebe eingestochen, bis die erfolgreiche Penetration einer Muskelzelle durch einen plötzlichen Potential-sprung in Höhe des Membranpotentials am Speicheroszillographen sichtbar wurde.

3.3. MESSANORDNUNG (Abb. 3)

Die Potentialmessung erfolgte zwischen der Mikroelektrode und einer AgCl-Bezugselektrode im Organbad. Die Potentiale wurden mit einem hochohmigen Kathodenfolger mit Kapazitätsausgleich (Impedanzwandler) einem Meßverstärker zugeführt. Das verstärk-te Signal wurde auf einen zweistrahligen Speicheroszillographen weitergeleitet. Die mechanische Aktivität des Präparates wurde mit Hilfe eines induktiven Kraftaufnehmers (HBM; Typ Q 11) in ein elektrisches Signal umgewandelt und ebenfalls dem Oszillo-graphen zugeführt. Diesem war ein Direktschreiber (Fa. Schwar-

zer) zur direkten Registrierung und ein Magnetband (Ampex FR-1300) zur Speicherung der Versuchsdaten nachgeschaltet. Die elektrische Ableitung wurde durch ein eingeschaltetes RC-Glied differenziert. Diese differenzierte Funktion (dU/dt) wurde ebenfalls auf dem Schreiber und dem Magnetbandgerät registriert.

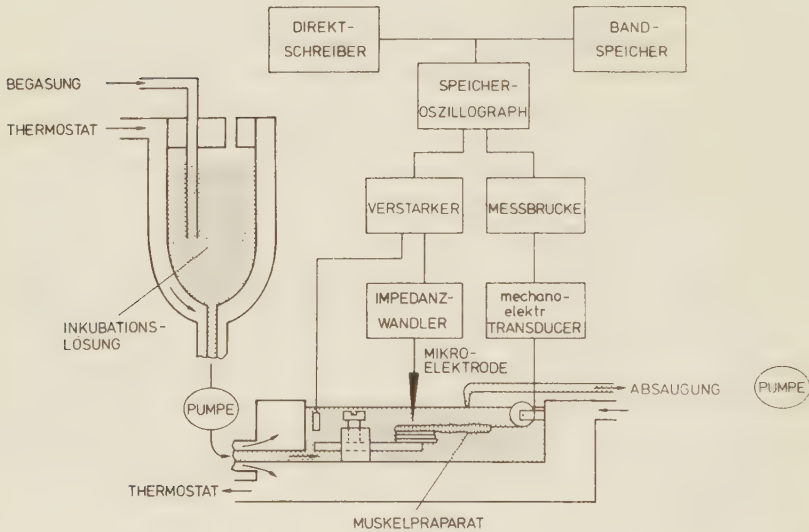


Abb. 3: Schema des Versuchsaufbaus zur intrazellulären Potentialableitung mit Mikroelektrode

3.4. LÖSUNGEN

Die nachfolgend aufgeführten Lösungen wurden am jeweiligen Versuchstag aus Stammlösungen frisch angesetzt.

KREBS-Lösung:

Na^+	136,5 mmol/l	Cl^-	134,2 mmol/l
K^+	5,9 mmol/l	HCO_3^-	14,4 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	H_2PO_4	1,2 mmol/l
Ca^{++}	2,5 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l

Nominell Calcium-freie KREBS-Lösung hatte mit Ausnahme des weggelassenen CaCl_2 die Zusammensetzung der Standard-KREBS-Lösung.

Natrium-freie Lösungen:

<u>1) Ca - 66</u>		<u>2) Ca - 2,5</u>	
K^+	5,9 mmol/l	K^+	5,9 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	Mg^{++}	1,2 mmol/l
Ca^{++}	65,9 mmol/l	Ca^{++}	2,5 mmol/l
Cl^-	134,2 mmol/l	Cl^-	7,4 mmol/l
HCO_3^-	5,9 mmol/l	HCO_3^-	5,9 mmol/l
Glucose	11,5 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l
Saccharose	82,8 mmol/l	Saccharose	273,0 mmol/l

Hyperosmolare Lösungen: In einigen Versuchen wurde hyperosmolare Lösung verwendet. Diese wurde durch Zugabe von Saccharose zu der Standard-KREBS-Lösung hergestellt: Addition von 50 g Saccharose pro Liter bewirkte eine Erhöhung der Osmolarität um 146 mosmol/l.

3.5. SUBSTANZEN

1) ÄTHANOL absolut

Äthylalkohol; E. Merck, Darmstadt

MG 46

2) NIFEDIPIN (BAYa 1040, Adalat)

BAYER AG Leverkusen

MG 346

(Abb.4)

Nifedipin ist lichtempfindlich. Besonders in gelöster Form wird die Substanz schnell zu unwirksamen Abbauprodukten zer-
setzt. Die Aufbewahrung und Verarbeitung darf deshalb nur
vor Licht geschützt oder bei Natriumdampflicht erfolgen. Ni-
fedipin wurde in Äthanol vorgelöst und dann von der entspre-
chenden Stammlösung die jeweils erforderliche Menge in die
Inkubationslösung gegeben. Dabei wurde sowohl die Löslich-
keit des in Äthanol vorgelösten Nifedipin in H_2O ($10 \mu g/ml$)
als auch die mitapplizierte Äthanolmenge berücksichtigt.
Durch Voruntersuchungen an der V.portae wurde die maximale
Äthanolkonzentration in der Inkubationslösung bestimmt, die
ohne Effekt auf die mechanische Spontanaktivität der V.por-
tae bleibt. Dieses Konzentrationslimit wurde bei den Nife-
dipin-Untersuchungen eingehalten. Es wurden $17,3 \text{ mg}$ Nifedi-
pin ad 10 ml in Äthanol gelöst. Von der Stammlösung wurde
eine Verdünnungsreihe ($1 : 10$) hergestellt. Aus den so ange-
fertigten Stammlösungen wurden mit einer Hamilton-Spritze
 20 bzw. $200 \mu l$ auf 100 ml Inkubationslösung appliziert. Die
dabei maximal erreichbare Endkonzentration des Nifedipin im
Organbad, bei Berücksichtigung einer Äthanolkonzentration
von maximal 2% , und der Löslichkeit des Nifedipin, lag bei
 10^{-5} mol/l . Die durchgeführten Voruntersuchungen über die
Anwendung des Nifedipin bei in vitro-Untersuchungen waren un-
bedingt notwendig, da bei einem Vorgehen nach einer von der
BAYER AG (Pharma Vertrieb) herausgegebenen Anleitung Endkon-
zentrationen von 20% Äthanol im Organbad eintreten, die un-
weigerlich zu einer Interaktion des Äthanol-Eigeneffektes
mit dem Nifedipin-Effekt auf die Spontanaktivität führen.*

*) SCHWARZ, H.: Die mechanische Spontanaktivität der isolier-
ten V.portae des Meerschweinchens und ihre Abhängigkeit von
den Inkubationsbedingungen unter besonderer Berücksichtigung
lokalanaesthetisch wirksamer Substanzen (Dissertationsschrift,
unveröffentlicht).

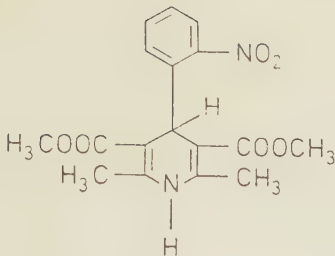


Abb. 4: Strukturformel von Nifedipin

3) IONOPHORE A 23187

Calbiochem GmbH, Gießen

MG 523

(Abb.5)

Die Ionophore A 23187 wurde in Äthanol vorgelöst und dann von der entsprechenden Stammlösung die jeweils erforderliche Menge der Inkubationslösung zugegeben. Dabei wurde sowohl die Löslichkeit der Ionophore in H₂O als auch die mit-applizierte Äthanolmenge berücksichtigt. Die maximale Äthanolkonzentration im Organbad betrug 2 %.

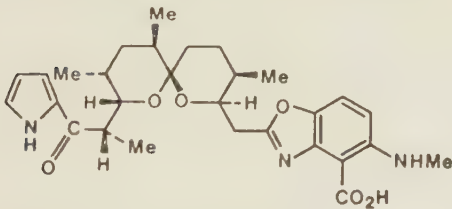


Abb. 5: Strukturformel der Ionophore A 23187

4) Lokalanästhetika

PROCAIN

SERVA Feinbiochemica

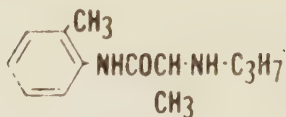
MG 273



PRILOCAIN

ASTRA Chemicals GmbH

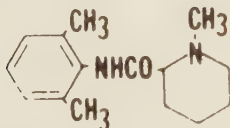
MG 257



MEPIVACAIN

ASTRA Chemicals GmbH

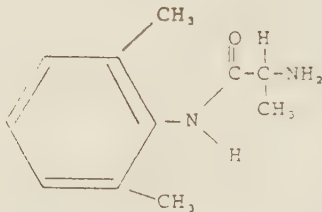
MG 283



TOCAINID

ASTRA Chemicals GmbH

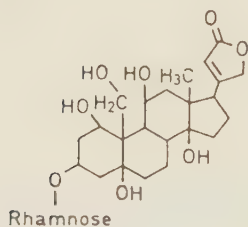
MG 229



5) OUABAIN (g-STROPHANTIN)

SIGMA Chemical Company

MG 728



3.6. INKUBATIONSBEDINGUNGEN

Die Inkubationstemperatur der Lösungen betrug bei allen Experimenten $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. Das Organbad aus Plexiglas hatte ein Volumen von 5 ml. Mit einer Saug-Druck-Pumpe wurde die Lösung kontinuierlich ausgetauscht. Die Lösung wurde ständig mit Carbogen (95% O_2 , 5% CO_2) durchperlt; der pH-Wert lag bei $7,3 \pm 0,1$. Die Temperatur und der pH-Wert wurden in regelmäßigen Abständen überprüft. Bei den Versuchen über den Effekt der Inkubationstemperatur auf die Spontanaktivität der *V. portae* wurde die Temperatur schrittweise von 22°C auf 37°C erhöht.

Die in das Organbad eingebrachten Präparate wurden mit 3×10^{-2} N passiv vorgedehnt. In einer Äquilibrierungszeit von 60 Minuten wurde die Entwicklung der mechanischen Spontanaktivität der *V. portae* mit dem Schreiber registriert. Danach wurde mit den intrazellulären Ableitungen begonnen.

3.7. KRITERIEN FÜR EINE ERFOLGREICHE ABLEITUNG

Für eine erfolgreiche Penetration der Zellmembran mit der Mikroelektrode stellten wir folgende Kriterien auf:

- 1) ein plötzlicher Potentialsprung bei der Penetration
- 2) die Stabilität des Membranpotentials für mindestens 30 Sekunden
- 3) das Auftreten von Aktionspotentialen als Einzelspikes oder Bursts mit einer Mindest-Amplitude von 40 mV
- 4) die Rückkehr zum Null-Potential, wenn die Elektrode aus der Zelle gezogen wurde.

3.8. DEFINITION DER MESSPARAMETER

Membranpotential (MP)

Das Ruhemembranpotential (RMP) spontan aktiver glatter Muskelzellen ist das maximale Repolarisationspotential zwischen zwei Spikes. Kurzfristige Schwankungen des Membranpotentials sind regelmäßig vorhanden. Dabei werden die Repolarisationspotentiale über einen längeren Zeitraum bestimmt und ihr Mittelwert errechnet. Das gemessene Membranpotential ist der Potentialwert, der durch die Ladungsdifferenz zwischen dem Zellinneren und der Extrazellulärflüssigkeit (in vitro = Organbad) entsteht.

Gemessen wird dieser Wert zwischen der Mikroelektrode, die sich im Zellinneren befindet, und der Bezugs Elektrode in der Inkubationslösung. Der Nullwert ist erreicht, wenn sich beide Elektroden im Organbad befinden. Dann besteht keine Ladungsdifferenz.

Veränderungen des Membranpotentials:

- Hyperpolarisation: die Ladungsdifferenz zwischen Zellinnerem und Extrazellulärraum wird größer; das MP wird noch mehr negativ
- Depolarisation: die Ladungsdifferenz zwischen Zellinnerem und Extrazellulärflüssigkeit wird kleiner; die Negativität des MP wird erniedrigt.

Aktionspotential (AP) oder Spike

Das Aktionspotential oder der Spike ist eine rasche Depolarisation des Membranpotentials mit anschließender ebenso rascher Repolarisation in die Ausgangsstellung. Es werden folgende Spikeparameter aufgeführt:

- Amplitude: Dies ist der Abstand zwischen dem MP-Wert und dem Potentialwert der AP-Spitze.
- Maximale Anstiegsgeschwindigkeit (maximum rate of rise; $V \text{ sec}^{-1}$) und

- Maximale Abstiegsgeschwindigkeit (maximum rate of fall; $V \text{ sec}^{-1}$) stellen die maximale Geschwindigkeit der Potentialänderungen der Zelle in der Zeit dU/dt_{max} während der Anstiegs- und Abstiegsphase des Aktionspotentials dar.
- AP-Frequenz: Anzahl der Aktionspotentiale (Spikes) in einer bestimmten Zeiteinheit (min^{-1})

Burst (engl.: Salve)

Es handelt sich um eine Erscheinung im elektrischen Aktivitätsmuster der Vena portae. Die Spikes werden in Salven abgefeuert. Diese werden Bursts genannt.

- Die Burstfrequenz ist die Anzahl der Bursts in einer bestimmten Zeiteinheit (min^{-1}).
- Die Burst-Dauer ist die Dauer des Spike-Feuers vom ersten bis zum letzten Aktionspotential (sec).
- Die Intervalldauer ist der Zeitraum zwischen zwei Bursts, in dem keine Aktionspotentiale abgefeuert werden (sec).

Slow waves

Sie stellen langsame Potentialänderungen dar. Zu unterscheiden sind hier ebenfalls Frequenz und Amplitude.

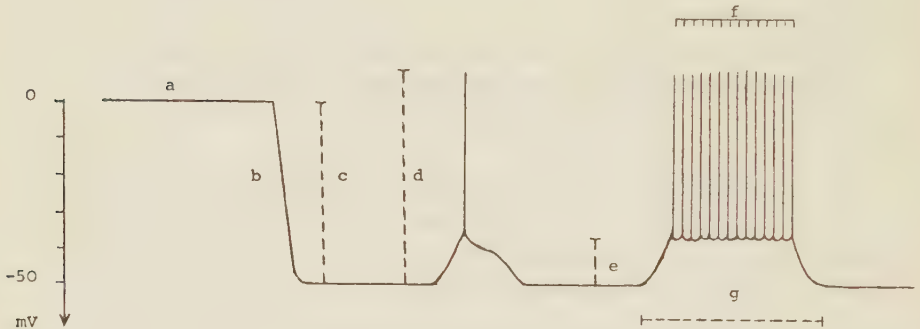
Isometrische Kraft

Diese wird als spontane bzw. induzierte Änderung der Kraft in 10^{-2} N nach einer definierten Ruhedehnung der Präparate gemessen. Sie wird als phasisch bezeichnet, wenn ihre Änderung in kurzen Zeitabständen mit dazwischenliegender Relaxation erfolgt. Sie wird als tonisch bezeichnet, wenn die Kraftänderung nicht unmittelbar von einer Relaxation gefolgt wird, sondern über eine gewisse Zeit ein erhöhter Spannungszustand erhalten bleibt.

3.9. AUSWERTUNG DER MESSERGEBNISSE

3.9.1. Ablesung der Ergebnisse

Die Parameter der elektrischen Aktivität wurden nach folgendem Schema ermittelt:



- a = Nullpotential
- b = Potentialsprung bei erfolgreicher Penetration der Zellmembran
- c = Ruhemembranpotential (RMP)
- d = Amplitude des AP (Spikeamplitude)
- e = Amplitude der slow wave
- f = Anzahl der Spikes pro Burst
- g = Burstdauer
- f/g = AP-Frequenz im Burst

3.9.2. Rechnerische Auswertung der Meßergebnisse

Aus den erhaltenen Meßdaten wurde das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) und die Standardabweichung (s) errechnet. Die Anzahl der Meßdaten (n) wird in Klammern angegeben.

3.10. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Um die Ergebnisse der intrazellulären Ableitungen anschaulich darzustellen, war es nötig, viele Abbildungen von Originalregistrierungen anzufertigen. Grundsätzlich folgen alle Abbildungen dem gleichen Schema: Die obere Bildhälfte zeigt die Originalregistrierung mit langsamer Schreibgeschwindigkeit. Dabei findet sich in der ersten Zeile die mechanische Aktivität, falls diese berücksichtigt wurde. Andernfalls stellt die obere Zeile die Kurve der elektrischen Aktivität dar (Einheit: mV). Darunter befindet sich die differenzierte Funktion (Einheit: V sec^{-1}). Diese Funktion dU/dt_{max} informiert über den Wert der maximalen Anstiegs- bzw. Abstiegsgeschwindigkeit des Aktionspotentials. In der unteren Bildhälfte sind jeweils wichtige Ausschnitte der beiden elektrischen Funktionen in zwanzigfacher Schreibgeschwindigkeit aufgetragen. Die Beschreibung der Abbildungen erfolgt im laufenden Text. Die Einwasch- bzw. Auswaschphase bei Lösungswechsel ist in den Abbildungen in Form eines Rasters zwischen den, das jeweilige Medium definierenden Beschreibungen, angedeutet.

4. E R G E B N I S S E

4.1. DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE DES MEERSCHWEINCHENS IN ISOOSMOLARER KREBS-LÖSUNG

Das typische Muster der Spontanaktivität der V. portae zeigt Abb. 6. In der oberen Zeile der Abbildung sind die rhythmischen phasischen Kontraktionen aufgezeichnet. Darunter zeigt sich die entsprechende elektrische Spontanaktivität. Diese besteht aus Bursts, die im Minutenrhythmus generiert werden. Dazwischen liegen Phasen, in denen keine Aktionspotentiale abgefeuert werden, die Phasen des Ruhemembranpotentials (RMP). In unseren Untersuchungen wurde für die V. portae folgender Mittelwert des RMP errechnet:

$$\text{RMP} = - 58,94 \pm 3,28 \text{ mV} \quad (\bar{x} \pm s ; n = 79)$$

Die Bursts stellen Salven von Aktionspotentialen dar. Diese werden jedoch nicht vom Niveau des RMP abgefeuert, sondern nehmen ihren Ursprung vom Schwellenwert einer langsamen Depolarisation, die im folgenden mit dem Ausdruck "slow wave" gekennzeichnet werden soll. Dieser Schwellenwert ist unterschiedlich hoch und ändert sich auch innerhalb eines Burst. So nimmt die Depolarisation gegen Ende des Burst langsam ab. Die maximale Repolarisation zwischen je zwei Spikes wird stärker. Die durchschnittsweise Vergrößerung eines Burst (Abb. 6) demonstriert dies sehr deutlich. Daneben zeigt diese Abbildung, wie sich Frequenz und Form der Spikes im Verlauf des Burst ändern: zu Beginn werden die Spikes mit hoher Frequenz (7 sec^{-1}), regelmäßiger Amplitude und konstanter Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit abgefeuert. Am Ende des Burst sinkt die Frequenz ab ($4,8 \text{ sec}^{-1}$). Die Form der Aktionspotentiale variiert sehr stark. Es kommt vermehrt zum Auftreten von Doppelspikes, wobei der zweite regelmäßig eine geringere Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit aufweist.

Die elektrische Aktivität eines anderen Präparates ist in Abb. 7 in doppelter Schreibgeschwindigkeit dargestellt.

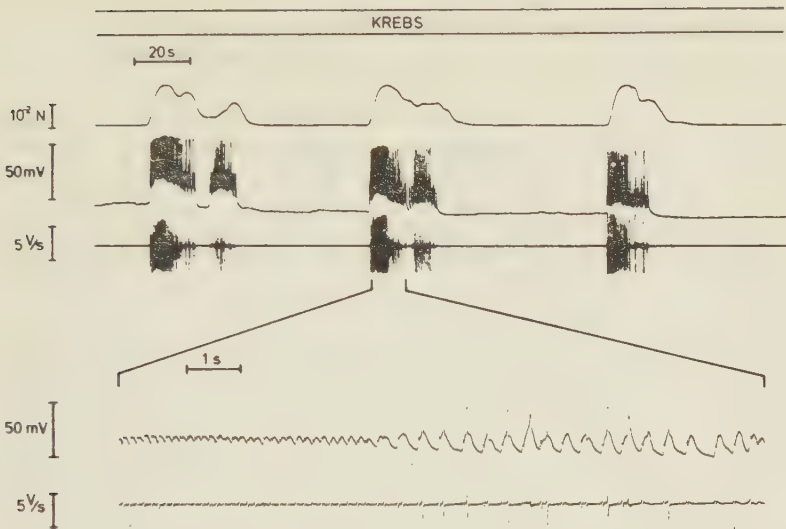


Abb. 6: Originalregistrierung der elektrischen und mechanischen Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens in isoosmolarer KREBS-Lösung bei 37°C.

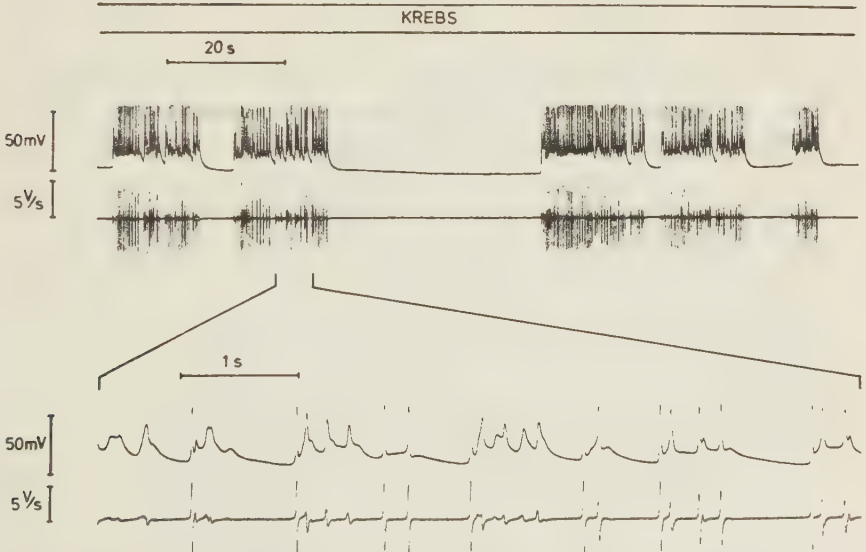


Abb. 7: Originalregistrierung der elektrischen Aktivität der V.portae in KREBS-Lösung; Aufzeichnung mit doppelter Schreibgeschwindigkeit.

Der untere Bildabschnitt verdeutlicht in starker Vergrößerung die Variabilität der Spikes in diesem Abschnitt.

Ein selteneres Muster der elektrischen Aktivität findet sich in Abb.8. Die minutenrhythmische Modulation der Aktionspotentiale in Form von Bursts fehlt bei einigen Präparaten. Sie weisen dagegen andauernde Spikeaktivität ohne Ruheintervalle auf. In dem vergrößerten Ausschnitt der Abbildung kann man deutlich sogenannte elektrotonische Potentiale erkennen. Sie gehören zu den langsamen Potentialänderungen und gehen entweder den Spikes direkt voraus, oder sie treten unabhängig von ihnen auf. Das elektrotonische Potential besteht aus einer Depolarisationswelle, die weniger als eine Sekunde dauert und Amplituden von 5 - 10 mV erreicht. Diese Potentiale treten unregelmäßig auf; sie können vor allem bei Präparaten mit Dauerspikeaktivität nachgewiesen werden. Bei Präparaten, die eine minutenrhythmische Modulation in Form von Bursts zeigen, sind die elektrotonischen Potentiale seltener zu finden. Sie sind dann den slow waves überlagert und regelmäßig mit der Generation eines Aktionspotentials verbunden.

Ein charakteristischer Abschnitt der elektrischen Aktivität der isolierten V.portae in KREBS-Lösung wurde quantitativ ausgewertet. Tabelle 2 faßt die Resultate zusammen.

Tab.2: Parameter der elektrischen Aktivität der V.portae in KREBS-Lösung

	$\bar{x}$	s	(n)
RMP (mV)	-58,94 ±	3,28	(79)
AP-Frequenz (min ⁻¹)	137,0 ±	24,3	(4)
Burstfrequenz (min ⁻¹)	1,8		
Burstdauer (sec)	19,4 ±	8,0	(7)
Intervalldauer (sec)	16,4 ±	5,9	(7)
AP-Frequenz im Burst (sec ⁻¹)	4,14 ±	0,4	(7)
Amplitude der AP (mV)	50,4 ±	3,8	(109)
Anstiegsgeschwindigkeit (V sec ⁻¹)	4,45 ±	0,5	(83)
Abstiegsgeschwindigkeit (V sec ⁻¹)	4,06 ±	0,5	(83)
Amplitude der slow waves (mV)	24,8 ±	3,9	(21)

In Abb. 6 ist in der oberen Zeile die mechanische Aktivität der V.portae dargestellt. Sie besteht aus tonischen und aus phasischen Komponenten. Der Grundtonus ist überlagert von phasischen Kontraktionskomplexen, die in ihrer Dauer, Amplitude, Frequenz und Konfiguration eine gewisse Variabilität zeigen. Das Gesamtmuster ist jedoch über einen langen Zeitverlauf konstant. Es unterscheidet sich auch nicht wesentlich bei den einzelnen Präparaten. Wie die Abb.6 demonstriert, sind in diesem Ausschnitt sowohl mechanische als auch elektrische Aktivität minutenrhythmisch moduliert. Sie sind sehr gut korreliert und lassen sich in bezug auf ihren zeitlichen Einsatz und ihr Muster einander leicht zuordnen. Eine derartig hohe Korrelation ist aber nicht regelmäßig zu beobachten. Die Kontraktionskomplexe stimmen zwar in ihrem Rhythmus mit den Bursts überein (d.h. sie sind beide minutenrhythmisch moduliert), können einander aber zeit-

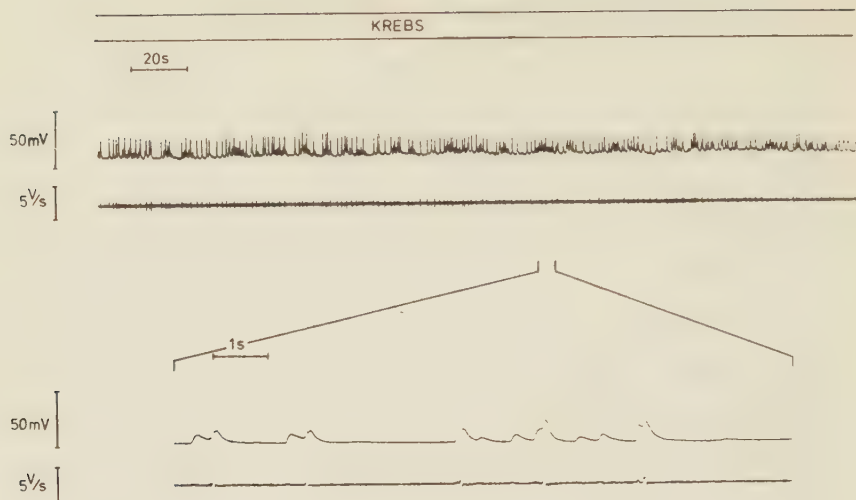


Abb. 8: Originalregistrierung der intrazellulären elektrischen Aktivität einer Zelle der *V. portae*, die Dauerspikesaktivität zeigt. Inkubation in KREBS-Lösung bei 37°C.

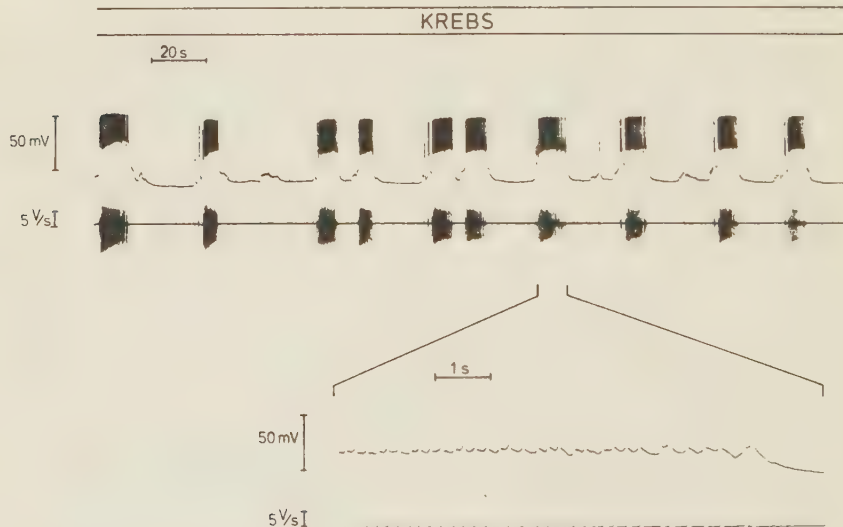


Abb. 9: Originalregistrierung der elektrischen Spontanaktivität der isolierten *V. portae*, die in einer hyperosmolaren KREBS-Lösung (461 mosmol/l) inkubiert war.

lich nicht immer exakt zugeordnet werden. Es bleibt zu erwähnen, daß bei der verwendeten Versuchsanordnung (s. Material und Methodik) die elektrische Aktivität einer einzelnen Zelle, dagegen die Kontraktionskraft des Gesamtpräparates gemessen wird.

4.2. DER EINFLUSS EINER HYPEROSMOLAREN INKUBATIONSLösUNG AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN VENA PORTAE

Nach dem Wechsel der Inkubationslösung von isoosmolarer auf hyperosmolare KREBS-Lösung kommt es zunächst zum Sistieren der elektrischen und der mechanischen Spontanaktivität. Nach einer Adaptation des Gewebes an die erhöhte Osmolarität der Lösung tritt nach etwa 20 Minuten wieder spontane elektrische und mechanische Aktivität auf, die sich nach weiteren 30 - 40 Minuten stabilisiert. Wie Abb. 9 zeigt, weist sie jetzt ein ähnliches Muster wie in isoosmolarer KREBS-Lösung auf. Das RMP wurde in zahlreichen Zellpunktionen gemessen. Dabei ergibt sich folgender Mittelwert für das RMP in der hyperosmolaren Lösung:

$$\text{RMP} = - 63,66 \pm 3,61 \text{ mV} \quad (\bar{x} \pm s; n = 59)$$

Durch die Erhöhung der Osmolarität um 146 mosmol/l wird die Membran der V. portae um durchschnittlich 4,72 mV hyperpolarisiert. Weiterhin treten folgende Veränderungen auf: die mittlere Burstdauer und die mittlere Intervalldauer werden verkürzt; die Burstfrequenz erhöht sich; die durchschnittliche Spikeamplitude sowie die Amplitude der slow waves sind, im Vergleich zur Aktivität in isoosmolarer KREBS-Lösung, erhöht. Die Streuung der Werte für Spikeamplitude, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit wird unter dem Einfluß der hyperosmolaren Lösung kleiner. Zwischen den Bursts treten unregelmäßig Einzelspikes auf, die eine sehr hohe Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit aufweisen.

Ein repräsentativer Abschnitt der elektrischen Aktivität in hyperosmolarer KREBS-Lösung wurde quantitativ ausgewertet. Das Ergebnis ist in Tabelle 3 aufgeführt.

Tab. 3: Parameter der elektrischen Aktivität der V.portae
in hyperosmolarer KREBS-Lösung (446 mosmol/l)

	$\bar{x}$		s	(n)
RMP (mV)	-63,6	±	3,61	(59)
AP-Frequenz (min ⁻¹)	99,5	±	29,7	(4)
Burstfrequenz (min ⁻¹)	2,5			
Burstdauer (sec)	10,8	±	3,0	(11)
Intervalldauer (sec)	12,8	±	4,6	(11)
AP-Frequenz im Burst (sec ⁻¹)	3,8	±	0,9	(10)
Amplitude der AP (mV)	69,77	±	3,5	(118)
Anstiegsgeschwin- digkeit (V sec ⁻¹)	4,3	±	0,5	(95)
Abstiegsgeschwin- digkeit (V sec ⁻¹)	4,7	±	0,3	(96)
Amplitude der slow waves (mV)	30,07	±	2,2	(30)

Zusammenfassend ergibt sich folgendes Bild: Die Erhöhung der Osmolarität der Inkubationslösung um 146 mosmol/l, durch Zusatz von 50 g/l Saccharose verändert einige Parameter der elektrischen Spontanaktivität der isolierten V.portae graduell. Das typische Muster (minutenrhythmische phasische Kontraktionen, ausgelöst durch das entsprechende Auftreten von Aktionspotentialen in Form von Bursts) bleibt jedoch in diesem Bereich der Hyperosmolarität weitgehend unbeeinflusst.

Dies ist insofern von Bedeutung, als einige Versuche in hyperosmolarer Lösung (446 mosmol/l) durchgeführt wurden. Die Zugabe von Saccharose erleichterte die Penetration der Zelle und ermöglichte die Durchführung von Langzeitableitungen der elektrischen Aktivität mittels Mikroelektrode.

4.3. DER EINFLUSS DER INKUBATIONSTEMPERATUR AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Die V.portae wurde in KREBS-Lösung bei vier verschiedenen Temperaturstufen inkubiert. Die Temperatur wurde stufenweise von 22 über 25 und 30 auf 37°C gesteigert. Abb. 10 A und B demonstrieren den Effekt dieser verschiedenen Temperaturen auf die Spontanaktivität der V.portae.

Auch bei der niedrigen Temperatur von 22°C zeigt die V.portae elektrische Aktivität. Das RMP beträgt hier durchschnittlich -53,0 mV. Die Spikeaktivität ist minutenrhythmisch in Form von Bursts moduliert. Die AP-Frequenz während des Burst ist dabei sehr niedrig. Sie liegt bei 0,4 pro Sekunde. Die Spikes haben durchschnittliche Amplituden von 52,5 mV. Sehr markant ist bei 22°C der Ablauf des Aktionspotentials verändert. Ist die Depolarisationsphase noch relativ unbeeinflusst, so ist die Dauer der Repolarisationsphase stark erhöht. Erst nach etwa zwei Sekunden hat das Potential seinen Ausgangswert wieder erreicht. Bei 37°C geschieht dies dagegen innerhalb weniger Millisekunden. Die ausschnittsweise Vergrößerung der Abbildung 10 A veranschaulicht die charakteristische Form der Spikes bei 22°C.

Mit zunehmender Temperatur wird das RMP immer höher. Bei 25°C werden -58, bei 30°C durchschnittlich - 61 mV gemessen. Schließlich wird bei 37°C ein Wert von - 63,6 mV erreicht. Die AP-Frequenz im Burst nimmt mit steigender Temperatur deutlich zu. Ebenso verhalten sich die Spikeamplituden. Einen Überblick über die einzelnen Meßwerte gibt Tabelle 5.

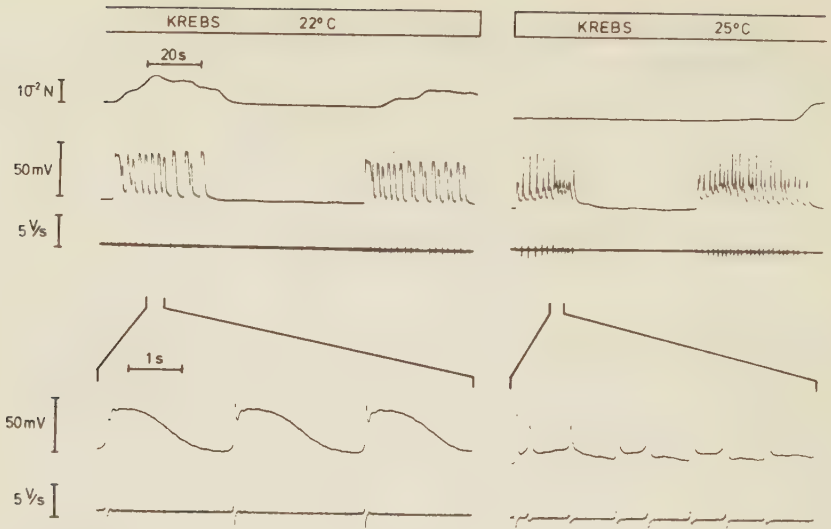


Abb. 10 A

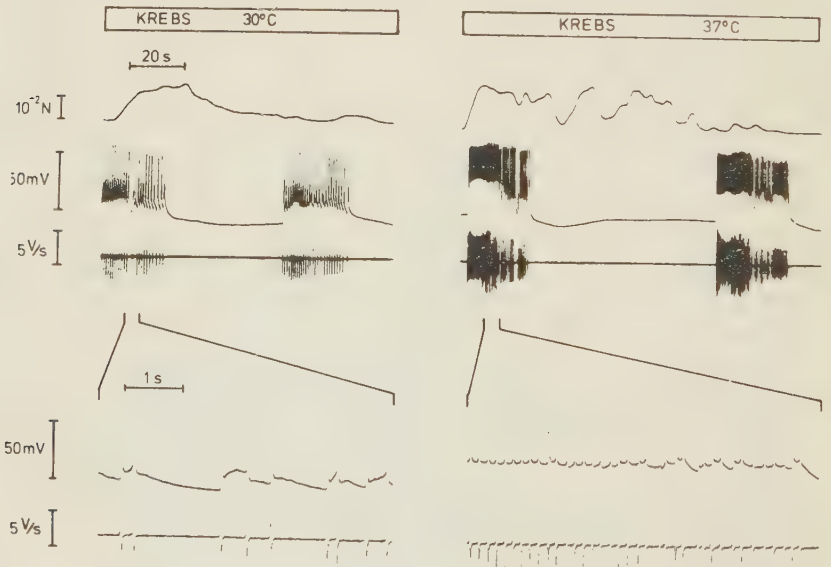


Abb. 10 B

Abb. 10 A und B: Die beiden Abbildungen zeigen die Originalregistrierung der mechanischen und der intrazellulären elektrischen Spontanaktivität der V. portae bei Inkubationstemperaturen von 22, 25, 30 und 37°C in KREBS-Lösung.

Tab.5: Die Parameter der elektrischen Aktivität der V.portae bei verschiedenen Temperaturen

Temperatur (°C)	RMP (mV)	AP-Frequenz im Burst (sec^{-1})	Amplitude der AP (mV)
22	- 53,0	0,4	52,5
25	- 58,0	1,0	57,5
30	- 61,0	2,15	62,0
37	- 63,6	6,5	66,5

Der Ablauf der Aktionspotentiale wird mit steigender Temperatur beschleunigt. Die Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit nehmen immer mehr zu. Über den ganzen Temperaturbereich wird die elektrische Aktivität durch Auftreten von Bursts und Ruheintervallen im Minutenrhythmus repräsentiert. Die Burstfrequenz ist dabei auffallend konstant. Die den Spikes im Burst unterlagerten slow waves sind bei 22°C sehr klein. In den höheren Bereichen nehmen ihre Amplituden größere Werte an. Als nach ständiger, schrittweiser Erwärmung 37°C erreicht sind, entwickelt die V.portae eine enorme elektrische Spontanaktivität, die sich vor allem durch eine hohe AP-Frequenz im Burst auszeichnet. Nach einiger Zeit der Adaptation normalisiert sich die elektrische Aktivität. Sie sinkt auf Werte, die mit denen von Präparaten vergleichbar sind, die dauernd bei 37°C inkubiert waren.

In allen Temperaturbereichen sind an der V.portae rhythmische, phasische Kontraktionen nachzuweisen. Die Amplitude steigt mit zunehmender Temperatur.

4.4. DER EINFLUSS DER EXTRAZELLULÄREN CALCIUM-KONZENTRATION AUF DIE ELEKTRISCHE AKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Die Abbildungen 11 A, B, C, D und E zeigen die Wirkung einer veränderten Konzentration von Calcium im EZR auf die elektrische Spontanaktivität der V. portae. Eine Erhöhung auf den dreifachen Wert ($7,5 \text{ mmol/l CaCl}_2$) bewirkt eine Erniedrigung der Burstfrequenz, Verlängerung der Burst- und Intervalldauer, sowie eine leichte Hyperpolarisation im Vergleich zu dem Muster der elektrischen Aktivität in KREBS mit normalem Ca-Gehalt ($2,5 \text{ mmol/l}$). Die Spikeamplituden sowie die Werte der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit steigen bei $7,5 \text{ mmol/l CaCl}_2$ im EZR geringfügig an (Abb. 11 A).

Eine Verringerung der extrazellulären Ca-Konzentration auf $1,5 \text{ mmol/l}$ führt zu einer leichten Membrandepolarisation. Burst- und Intervalldauer sind verkürzt. Die Burstfrequenz ist erhöht. Die Amplituden der AP und ihre Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit nehmen geringfügig ab (Abb. 11 B).

Abb. 11 C veranschaulicht die Wirkung einer weiteren Verringerung des Gehaltes an freien Ca-Ionen im EZR auf $0,75 \text{ mmol/l}$. Die Bursts werden noch kürzer und weichen schließlich zugunsten von Zwei-Spike-Komplexen. Diese treten in hoher Frequenz auf. Hinzu kommen eine weitere graduelle Depolarisation und Abnahme der Spikeamplitude, sowie eine Verminderung der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit. Bei einer Konzentration von $0,25 \text{ mmol/l CaCl}_2$ finden wir eine Dauerspikeaktivität (Abb. 11 D). Der Burst ist jetzt vollkommen aufgelöst, die Depolarisation noch weiter angestiegen. Die Aktionspotentiale werden immer langsamer, ihre Amplituden immer kleiner.

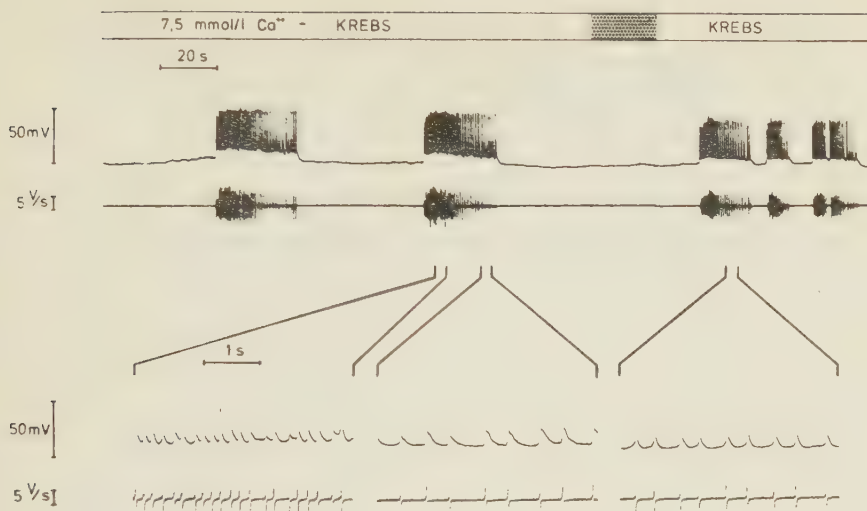


Abb. 11 A: Legende nach Abb. 11 E

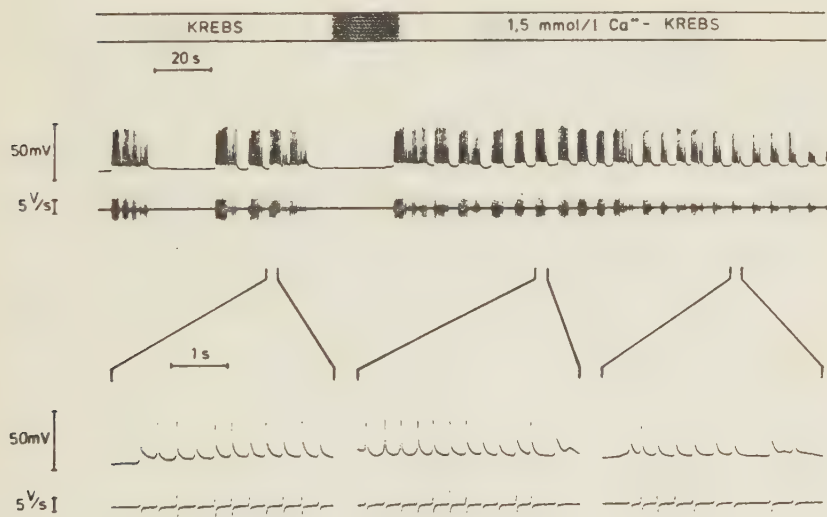


Abb. 11 B: Legende nach Abb. 11 E

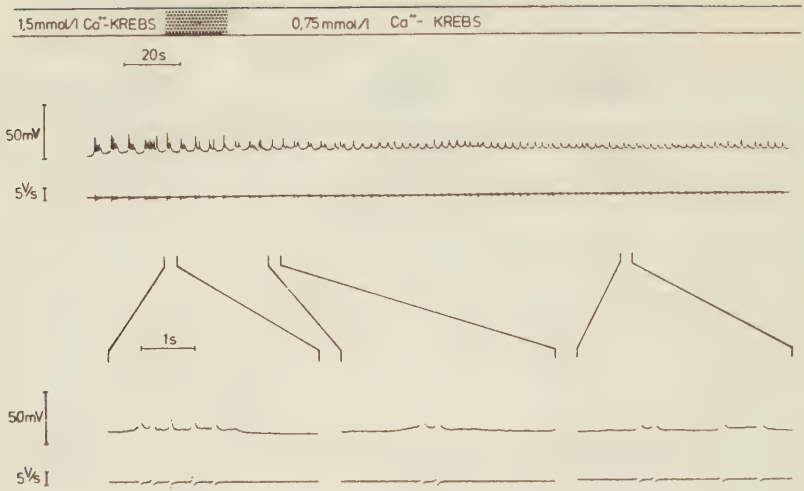


Abb. 11 D: Legende nach Abb. 11 E

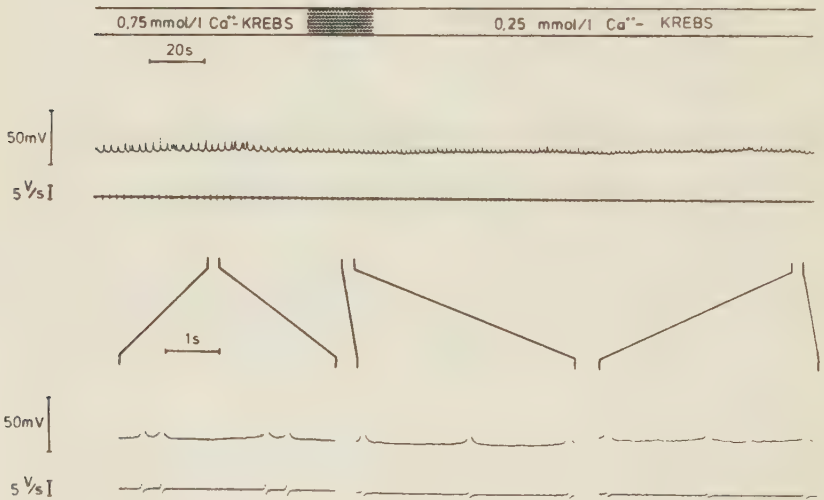


Abb. 11 C: Legende nach Abb. 11 E

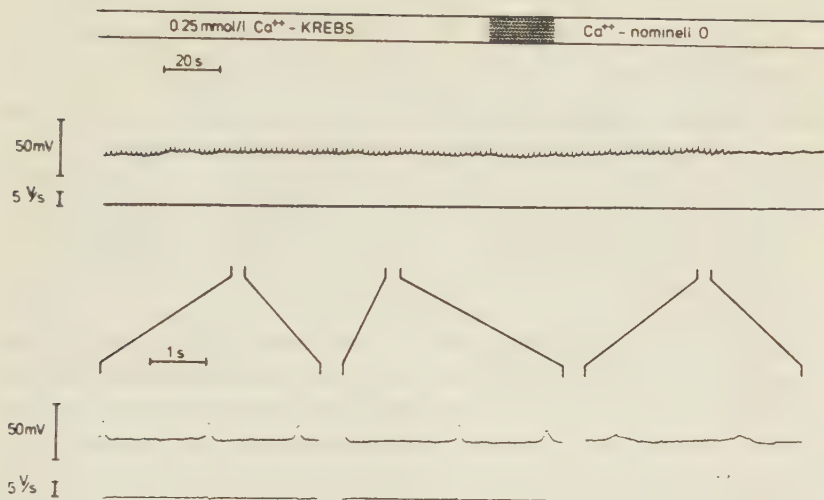


Abb. 11 E:

Abb. 11 A, B, C, D, E: Diese fünf Abbildungen zeigen eine fortlaufende Originalregistrierung der intrazellulären elektrischen Spontanaktivität der V.portae bei unterschiedlichen Calcium-Konzentrationen in KREBS-Lösung. Die Calcium-Konzentration wurde schrittweise verringert von 7,5 mmol/l über 2,5 mmol/l, 1,5 mmol/l, 0,75 mmol/l und 0,25 mmol/l bis schließlich nominell Ca-freie Lösung erreicht war. Die Abbildungen entstammen einer Langzeitregistrierung aus einer einzigen Zelle der V.portae. Nähere Erläuterungen zu den Abbildungen finden sich im laufenden Text.

In nominell Ca-freier Lösung (Abb. 11D) kommt es nach kurzer Zeit zum Sistieren der Spikeaktivität. Eine Dauerdepolarisation bleibt bestehen. Das RMP ist in der Ca-freien Lösung gegenüber KREBS mit 2,5 mmol/l CaCl_2 um etwa 5 mV reduziert.

Die Zelle ist also in Ca-freier Lösung nicht mehr in der Lage, Aktionspotentiale zu bilden. Durch Wiedertzugabe von Calcium in die Inkubationslösung wird die Fähigkeit der Zelle, Aktionspotentiale zu generieren, wiedererweckt. Die in den Bildern gezeigten Aktivitätsmuster werden, bei schrittweiser Erhöhung der Ca-Konzentration, in umgekehrter Reihenfolge durchlaufen.

Die beschriebene Änderung der elektrischen Aktivität ist verbunden mit folgendem Verhalten der mechanischen Aktivität der V.portae: die Amplituden und die Dauer der phasischen Kontraktionen nehmen mit sinkender Ca-Konzentration im EZR ab, wogegen ihre Frequenz zunimmt. In nominell Ca-freier Lösung verschwinden die Kontraktionen vollständig (ohne Abbildung).

4.5. DIE WIRKUNG DES CALCIUM-ANTAGONISTEN NIFEDIPIN AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Die Abbildungen 12 A, B, C, D, E, F und G zeigen in einer fortlaufenden Originalregistrierung die Effekte verschiedener Konzentrationen von Nifedipin auf die mechanische und elektrische Spontanaktivität der V. portae. In KREBS-Lösung hat das RMP einen Wert von - 53 mV. Die Spikefrequenz beträgt durchschnittlich 31 pro Minute. In niedrigen Konzentrationen (10^{-9} und 10^{-8} mol/l) erhöht Nifedipin die AP-Frequenz auf 48,3 bzw. 49,4 pro Minute. Die Dauer der Spike-freien Intervalle wird verkürzt, während die Burstdauer und die Burstfrequenz sich erhöhen. Daneben kommt es zum vermehrten Auftreten von Einzelspikes außerhalb der Bursts. Das RMP bleibt in diesem Konzentrationsbereich relativ konstant bei - 53 mV (Abb. 12 A und B). Entsprechend den Veränderungen der elektrischen Aktivität tritt auch ein anderes Kontraktionsmuster auf. Durch 10^{-9} bzw. 10^{-8} mol/l Nifedipin werden sowohl Amplitude als auch Dauer der phasischen Kontraktionen erhöht.

Eine Steigerung der Nifedipin-Konzentration auf 3×10^{-8} mol/l führt zu einer Auflösung der Bursts, zugunsten einer rhythmisch modulierten Dauerspikesaktivität. Mit zunehmender Inkubationszeit wird die Amplitude und die Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes immer mehr reduziert (Abb. 12 C, D, E, F und G). Das RMP erfährt über den langen Zeitverlauf von 20 Minuten eine leichte Depolarisation um etwa 5 mV.

So beträgt das RMP nach einer Inkubationszeit von fünf Minuten in 3×10^{-8} mol/l Nifedipin noch - 52 mV. Die Spikefrequenz ist auf 29 pro Minute abgesunken, bei einer durchschnittlichen Amplitude von etwa 30 mV. Zur gleichen Zeit liegen die Werte der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit noch durchschnittlich über 2 V sec^{-1} (Abb. 12 D).

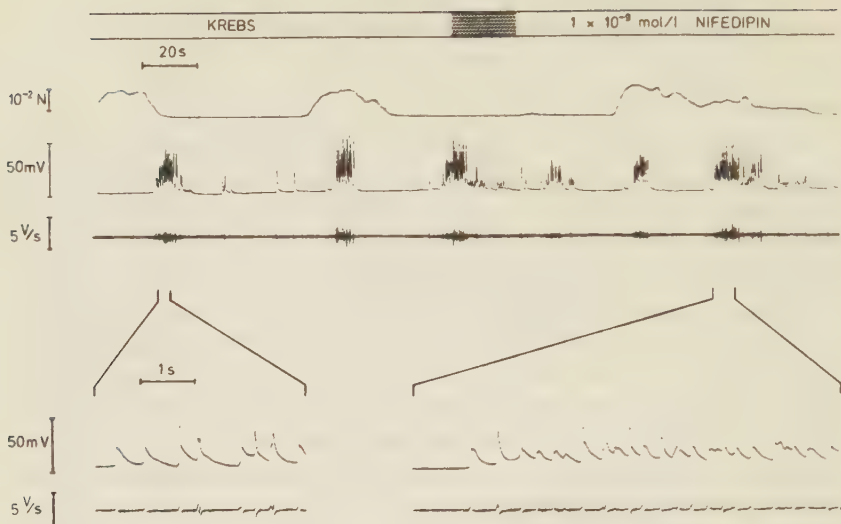


Abb. 12 A: Legende nach Abb. 12 G

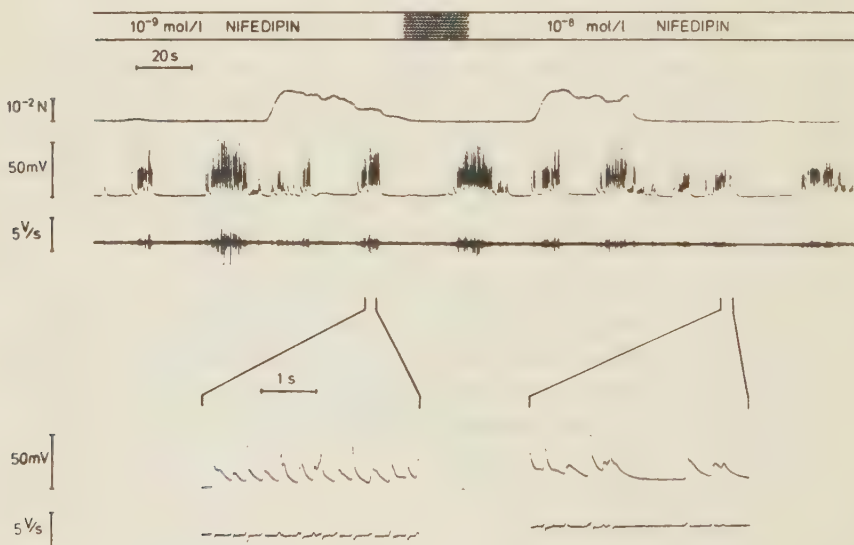


Abb. 12 B: Legende nach Abb. 12 G

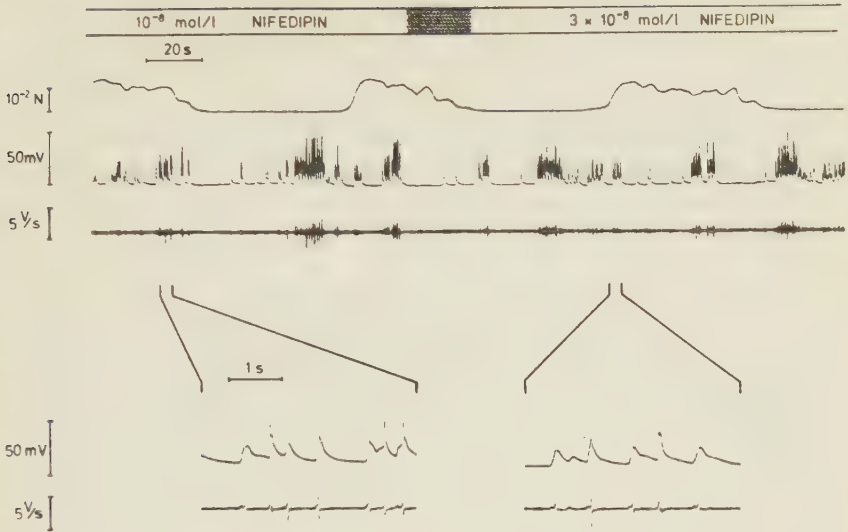


Abb. 12 C: Legende nach Abb. 12 G

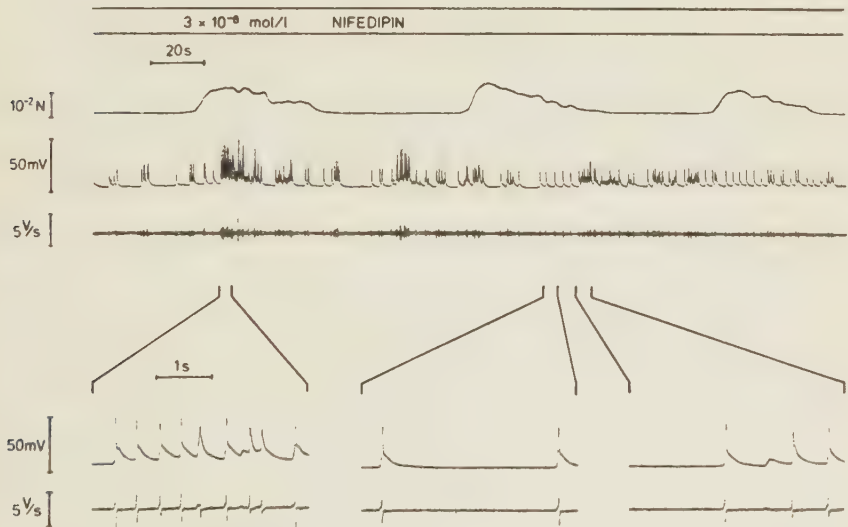


Abb. 12 D: Legende nach Abb. 12 G

Nach zehn Minuten wird ein RMP von 50 mV gemessen. Die Spikefrequenz liegt bei 25,5 pro Minute. Die Amplituden sind auf durchschnittlich 20 mV reduziert. Die Maximalwerte der differenzierten Funktion sind unter 1 V sec^{-1} abgesunken. Weitere fünf Minuten später wird erneut ein RMP von - 50 mV ermittelt, bei einer Frequenz von 21 Spikes pro Minute. Die durchschnittliche Amplitude liegt bei etwa 10 mV, während Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit weit weniger als 1 V sec^{-1} betragen und daher in der Aufzeichnung nicht mehr ablesbar sind (Abb. 12 E).

Nach einer Inkubationszeit von zwanzig Minuten in einer Lösung mit 3×10^{-8} mol/l Nifedipin beträgt das RMP - 48 mV. Die V.portae zeigt nur noch langsame Potentialänderungen mit einer maximalen Amplitude von 10 mV (Abb. 12 G). Die Amplitude der phasischen Kontraktionen nimmt mit andauernder Inkubationszeit ständig ab, während gleichzeitig ihre Frequenz erhöht wird. Auch nach langer Zeit bleibt eine mechanische Restaktivität bestehen (Abb. 12 G).

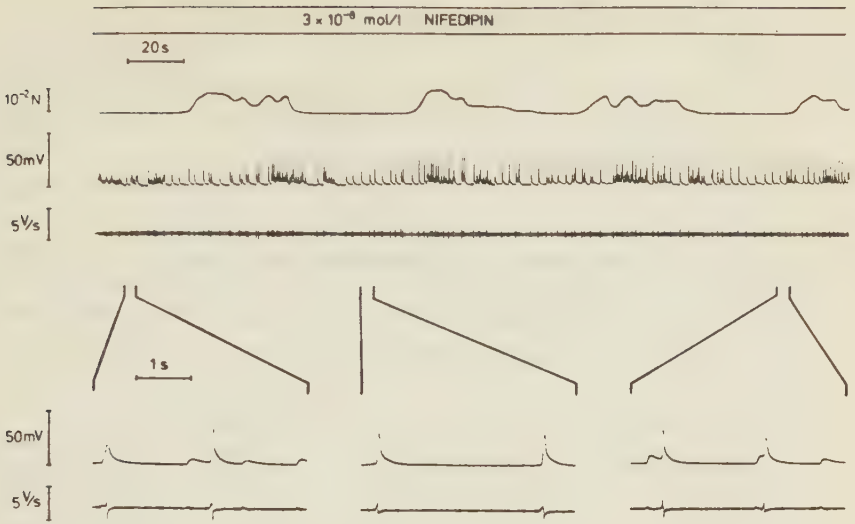


Abb. 12 E: Legende nach Abb. 12 G

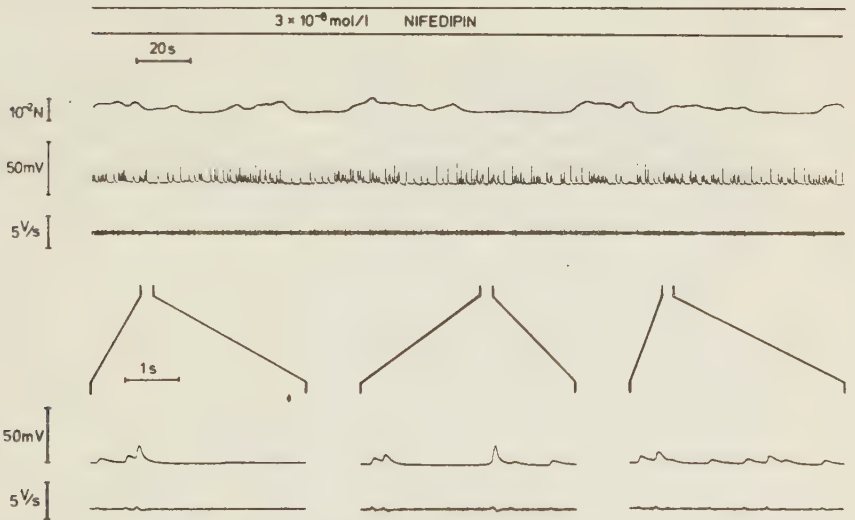


Abb. 12 F: Legende nach Abb. 12 G

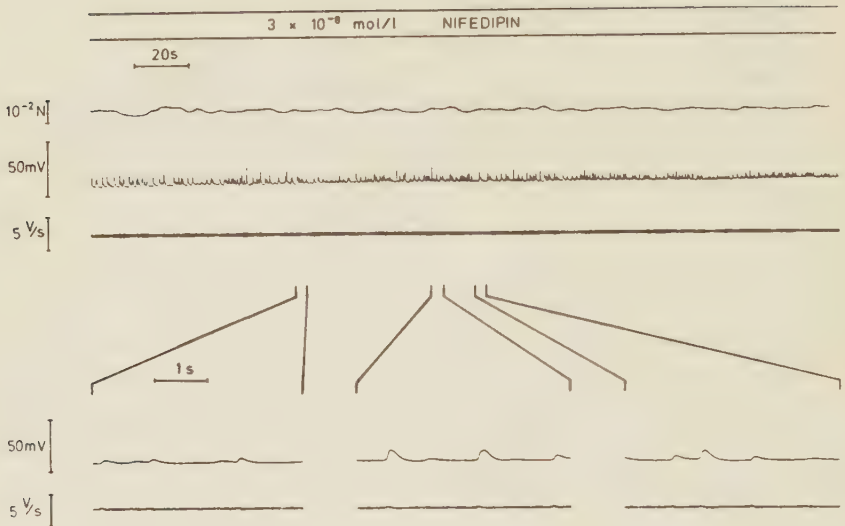


Abb. 12 G:

Abb. 12 A, B, C, D, E, F und G: Die sieben Abbildungen stellen eine fortlaufende Originalregistrierung einer intrazellulären Potentialmessung dar. Sie veranschaulichen den Effekt steigender Dosen des Calcium-Antagonisten Nifedipin auf die elektrische und mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae über einen langen Zeitverlauf. Die Erläuterungen zu den Abbildungen finden sich im laufenden Text.

Der Effekt von Nifedipin zeigt eine Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration. In einer Lösung mit 2,5 mmol/l CaCl_2 bewirkt 3×10^{-8} mol/l Nifedipin nach kurzer Zeit eine deutliche Reduzierung der Spikeamplituden und der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes (Abb. 13 A). Durch eine Steigerung der extrazellulären Calcium-Konzentration auf 7,5 mmol/l wird dieser Effekt sichtbar abgeschwächt. Noch deutlicher wird diese Antagonisierung bei einem Gehalt von 12,5 mmol/l CaCl_2 in der Inkubationslösung. Allerdings wird auch hier das Muster der elektrischen Aktivität in KREBS-Lösung nicht vollständig wiederhergestellt (Abb. 13 A und B).

Enthält die KREBS-Lösung von vornherein 7,5 mmol/l CaCl_2 , so ist eine höhere Konzentration von Nifedipin (10^{-7} mol/l) notwendig, um den gleichen Effekt wie 3×10^{-8} mol/l Nifedipin bei normaler Calcium-Konzentration (2,5 mmol/l) zu erzielen (ohne Abbildung).

Nach längerem Auswaschen mit KREBS-Lösung ist die Wirkung von Nifedipin reversibel. Häufig erscheint dann jedoch ein verändertes Muster der elektrischen Spontanaktivität.

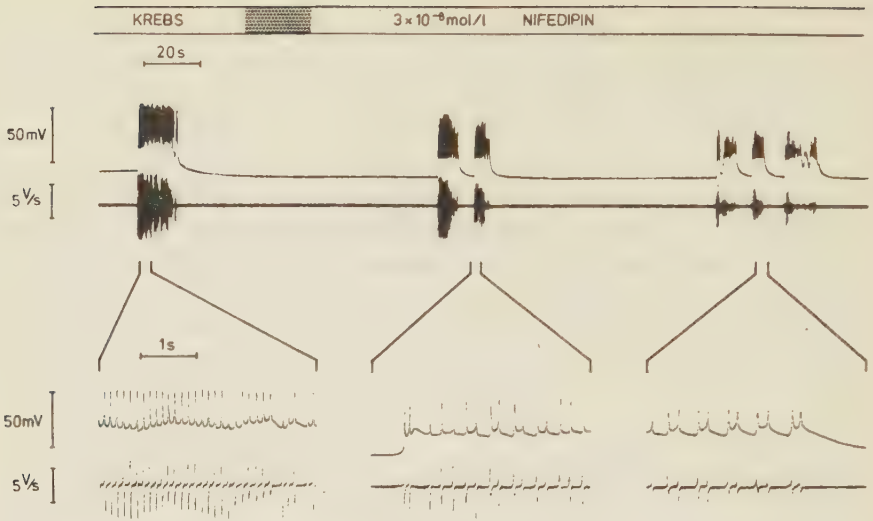


Abb. 13 A:

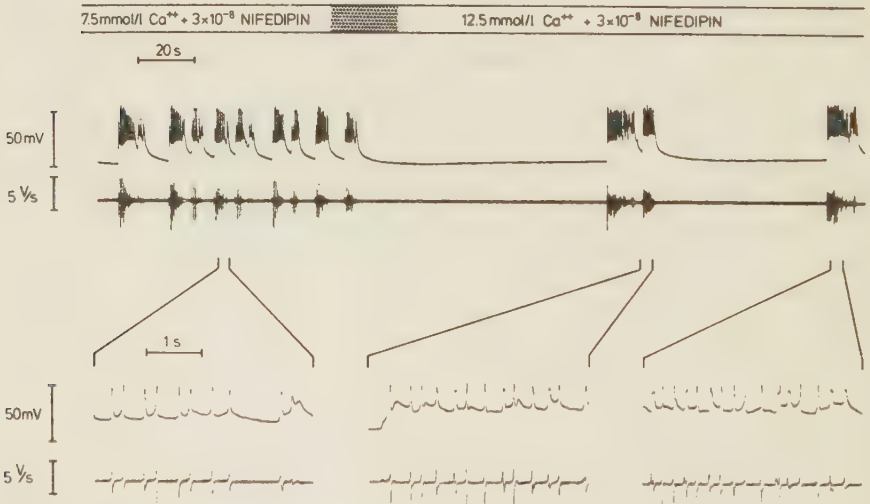


Abb. 13 B:

Abb. 13 A und B: Die beiden Abbildungen zeigen den Effekt von Nifedipin auf die elektrische Spontanaktivität der V. portae in KREBS-Lösung (13 A) und dessen Antagonisierung durch die Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration (13 B) auf 7,5 bzw. 12,5 mmol/l CaCl_2 .

4.6. DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER LOKALANÄSTHETIKA UND DES ANTIARRHYTHMIKUMS TOCAINID AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE

4.6.1. Prilocain (Abb. 14, 15, 16)

Der Effekt des Lokalanästhetikums Prilocain auf die elektrische Spontanaktivität ist dosisabhängig. Die Konzentrationen 10^{-5} und 10^{-4} mol/l bewirken eine Zunahme der Spikefrequenz und der Burstfrequenz. Die Burstdauer ist verlängert, die Intervalldauer verkürzt. Spikeamplitude, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes erfahren in diesem Konzentrationsbereich keine wesentliche Änderung. Auch das RMP hat etwa den gleichen Wert wie in KREBS-Lösung (Abb. 14 A und B). Die Wirkung dieser beiden Konzentrationen von Prilocain ist relativ schwach.

Deutlichere Effekte ruft das Prilocain in einer Konzentration von 10^{-3} mol/l hervor (Abb. 15 A und B). Die Burstfrequenz und die Spikefrequenz nehmen deutlich zu, die Intervalldauer ist stark verkürzt. Das RMP sinkt von - 61 mV in KREBS-Lösung unter dem Einfluß von 10^{-3} mol/l Prilocain auf Werte zwischen - 52 und - 47 mV. Dies entspricht einer durchschnittlichen Membrandepolarisation von etwa 10 mV. Die Werte der maximalen Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit sinken stark ab. Der Ablauf des einzelnen Aktionspotentials ist deutlich verlangsamt. Wie Abb. 16 B demonstriert, führt die erneute Inkubation des Präparates in KREBS-Lösung zu der umgekehrten Reaktion. Die Intervalldauer nimmt sofort wieder zu; das RMP erreicht schnell den Ausgangswert von - 61 mV; Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit werden wieder sichtbar größer.

Noch höhere Konzentrationen von Prilocain bewirken ein Sistieren der Spikegeneration an der Muskelzelle der V. portae. Der Ablauf der Aktionspotentiale wird zunächst mit zunehmender Inkubationszeit immer langsamer, die Amplitude ständig kleiner. Letztlich werden diese langsamen wellenförmigen Schwingungen von einer Dauerdepolarisation abgelöst. So zeigt Abb. 16



Abb. 14 A:

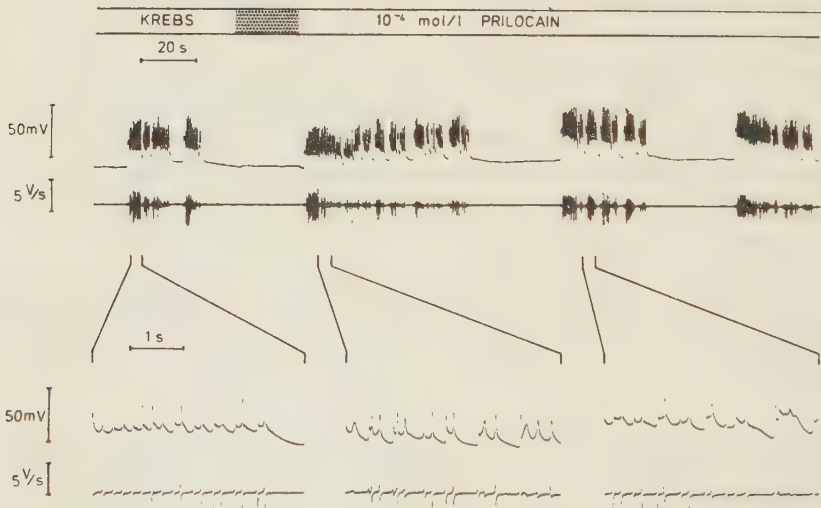


Abb. 14 B:

Abb. 14 A und B: Die beiden Abbildungen zeigen die Wirkung von Prilocain in zwei verschiedenen Konzentrationen auf das Muster der elektrischen Spontanaktivität der V. portae. Die niedrigere Konzentration wurde nach Erreichen eines steady state mit KREBS-Lösung ausgewaschen. Danach wurde die höhere Dosis appliziert.

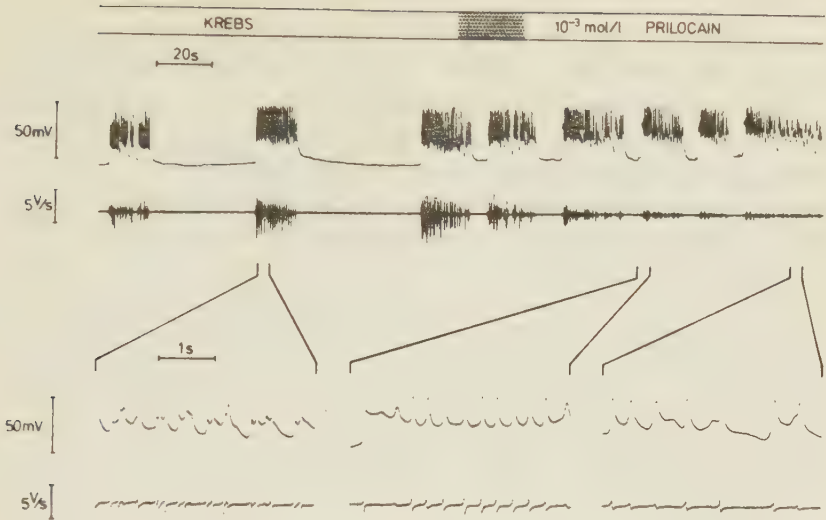


Abb. 15 A:

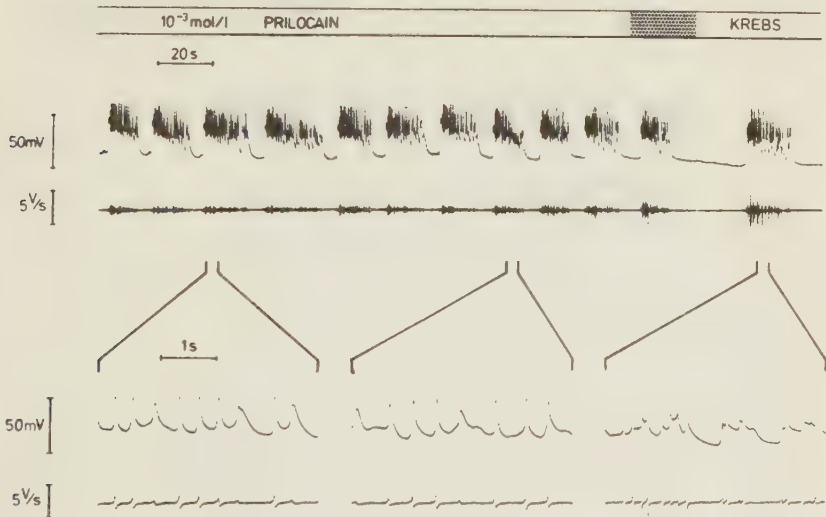


Abb. 15 B:

Abb. 15 A und B: Der Effekt von Prilocain (10^{-3} mol/l) auf die elektrische Spontanaktivität der *V. portae*. Auszug aus einer fortlaufenden Originalregistrierung der elektrischen Aktivität durch intrazelluläre Ableitung.

einen Versuch, bei dem 10^{-2} mol/l Prilocain die elektrische Spontanaktivität der V.portae völlig zum Erliegen bringt. Nach einer Inkubationszeit von 30 Sekunden wird kein Spike mehr abgefeuert; die Membran ist um 32 mV depolarisiert. Im Vergleich dazu dauert es bei einer Prilocain-Konzentration von 3×10^{-3} mol/l über fünf Minuten, bis die Spikegeneration unterdrückt ist und eine anhaltende Depolarisation von 30 mV bestehen bleibt (ohne Abbildung).

Bei einer Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration auf 7,5 mmol/l benötigt das Prilocain in einer Dosis von 10^{-2} mol/l dreimal so lang, um die Spikegeneration zu hemmen, wie in normaler KREBS-Lösung (2,5 mmol/l CaCl_2) (ohne Abbildung).

Der Effekt von Prilocain ist im gesamten Untersuchungsbereich reversibel.

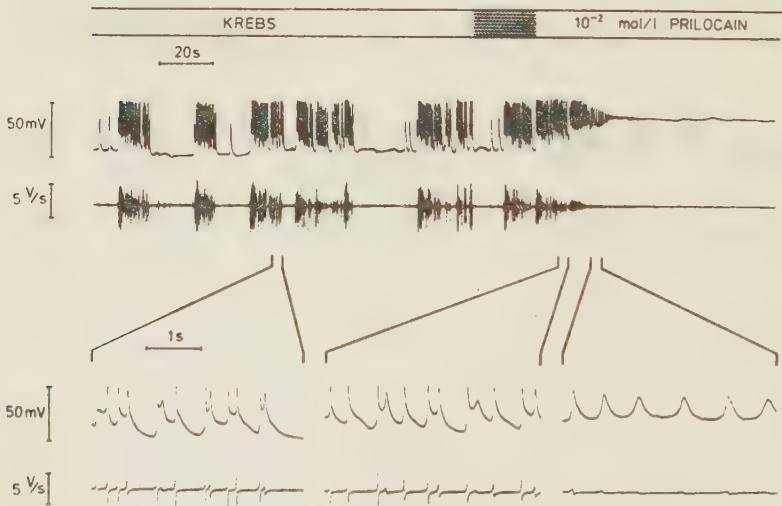


Abb. 16: Der Effekt von 10^{-2} mol/l Prilocain auf die elektrische Spontanaktivität der isolierten V.portae in KREBS-Lösung mit physiologischem Calciumgehalt (2,5 mmol/l).

4.6.2. Mepivacain (Abb. 17, 18, 19, 20)

Mepivacain hat auf die elektrische Spontanaktivität der V. portae qualitativ den gleichen Effekt wie Prilocain. Die beiden Lokalanästhetika unterscheiden sich lediglich im Grad ihrer Wirkstärke, wobei Mepivacain stärker wirksam ist als Prilocain.

Die Abbildungen 17 A und B demonstrieren die Wirkung von Mepivacain in den Konzentrationen 10^{-5} und 10^{-4} mol/l auf die elektrische Spontanaktivität der V. portae. In beiden Fällen zeigt sich folgende Tendenz: Die Spikeaktivität der Zelle nimmt zu; die Intervalle zwischen den Bursts werden kürzer. Die Spikeparameter wie Amplitude, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit werden wenig beeinflusst. Es kommt zu einer schwachen Depolarisation. Die genannten Veränderungen sind bei der höheren Konzentration (10^{-4} mol/l) etwas stärker ausgeprägt (Abb 17 B).

Bei 3×10^{-4} mol/l Mepivacain verschwindet die rhythmische Modulation der elektrischen Aktivität in Form von Bursts zugunsten einer regelmäßigen, hochfrequenten Dauerspikegeneration mit geringer Membrandepolarisation. Die Frequenzerhöhung bezieht sich dabei auf die Spikeanzahl pro Zeiteinheit, wobei die Ruheintervalle in der Zeit miteinfaßt sind. Vergleicht man dagegen die Spikefrequenz der Daueraktivität unter Mepivacain mit der AP-Frequenz innerhalb eines Burst in KREBS (errechnet aus der Burstdauer und der Spikeanzahl pro Burst), so zeigt sich, daß die Spikes in KREBS während des Burst in schnellerer Folge abgefeuert werden. Da in KREBS jedoch lange Ruheintervalle auftreten, kommt es zu einem geringeren Wert der Gesamtfrequenz. Wie die ausschnittsweise Vergrößerung der Abb. 18 A zeigt, werden die Spikes in ihrem Erscheinungsbild um so gleichmäßiger, je länger die Inkubationsdauer ist. Die Variabilität der Spikeform nimmt ab. Die Werte der differenzierten Funktion werden kleiner. Eine Erhöhung der Konzentration auf 3×10^{-3} mol (Abb. 18B) verstärkt diesen Effekt. Die Spikeamplitude nimmt mit zunehmender Inkubationszeit ab. Ebenso verhalten sich die Werte der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit. Schließlich treten nur

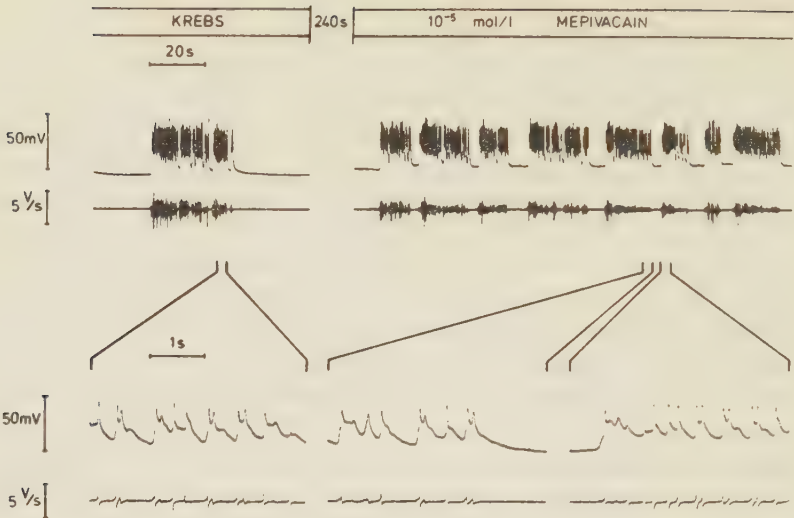


Abb. 17 A:

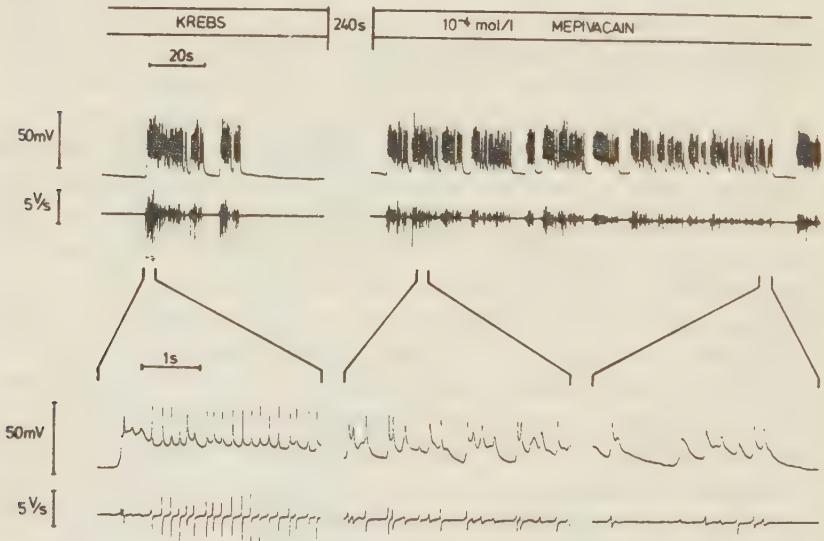


Abb. 17 B:

Abb. 17 A und B: Die beiden Abbildungen demonstrieren den Effekt von Mepivacain in zwei verschiedenen Konzentrationen auf die elektrische Aktivität der V. portae. Da in diesem Konzentrationsbereich eine gewisse Zeit vergeht, bis Mepivacain seine volle Wirkstärke erreicht hat, wird hier die elektrische Aktivität erst 4 Minuten nach Applikationsbeginn gezeigt.

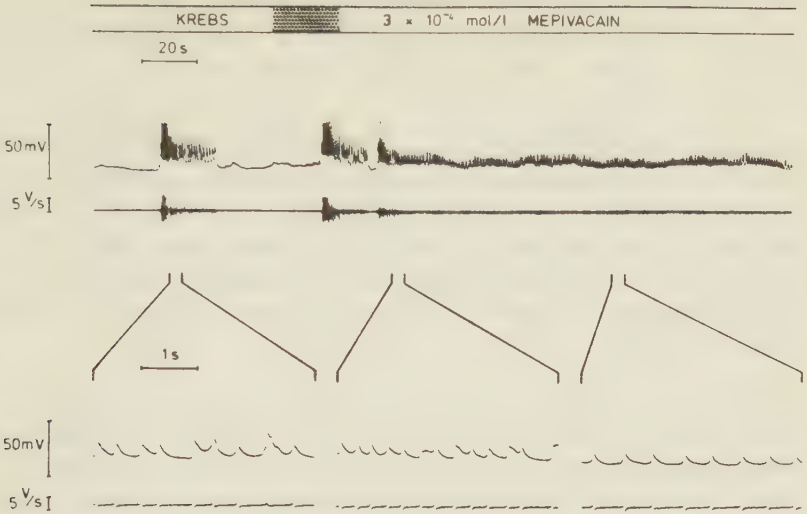


Abb. 18 A:

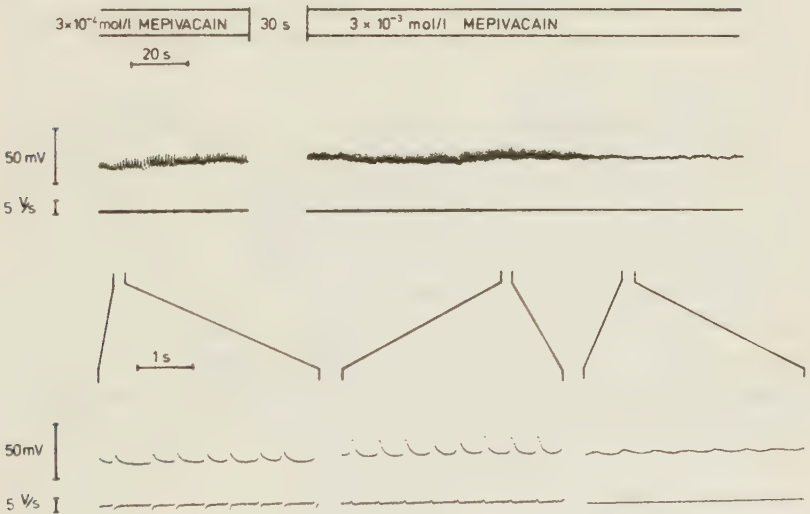


Abb. 18 B:

Abb. 18 A und B: Die Wirkung einer sukzessiven Gabe zweier verschiedener Konzentrationen von Mepivacain auf die spontane elektrische Aktivität der V. portae. Die beiden Abbildungen stellen zwei direkt aufeinanderfolgende Teile einer Originalregistrierung dar.

noch wellenförmige Schwankungen des Membranpotentials auf, wobei die Werte der differenzierten Funktion außerhalb des Meßbereiches liegen. Letzten Endes führt dies zur Dauerdepolarisation.

Die AP-Frequenz verhält sich im Verlauf dieses Versuches folgendermaßen: Unmittelbar nach Applikation von 3×10^{-4} mol/l Mepivacain kommt es zu einer Frequenzerhöhung. Nach längerer Inkubation in diesem Medium nimmt die Frequenz aber wieder ab. Sie bleibt dann - auch bei der höheren Konzentration (3×10^{-3} mol/l) - relativ konstant, bis zum Sistieren der Spikeentladung (Abb. 18 A und B).

Eine noch höhere Konzentration von Mepivacain (10^{-2} mol/l) führt nach sehr kurzer Zeit zur völligen Hemmung der elektrischen Aktivität und zu einer Dauerdepolarisation um 10 bis 15 mV (Abb. 19 A). Die Erhöhung des Calciumgehaltes im EZR auf 7,5 mmol/l kann diesen Effekt verzögern, aber nicht verhindern (Abb. 19 B). Nebenbei verdeutlichen die beiden Abbildungen (19 A und B) noch einmal die unterschiedlichen Muster der elektrischen Spontanaktivität in KREBS-Lösung mit 2,5 mmol/l CaCl_2 (19 A) bzw. 7,5 mmol/l CaCl_2 (19 B).

In einem weiteren Experiment wurde die Pfortader von einer Lösung mit 3×10^{-2} mol/l Mepivacain umspült (Abb. 20). Im Vergleich zum RMP in KREBS-Lösung ist die Membran um 29 mV depolarisiert. Die Spikeaktivität ist erloschen. Sie läßt sich jedoch durch Lösungswechsel auf Normal-KREBS regenerieren. Zunächst treten wellenförmige Schwankungen des MP auf. Sie nehmen in ihrer Amplitude und ihrer Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit mehr und mehr zu, bis nach einigen Minuten wieder das normale Aktivitätsmuster erreicht ist. Die Wirkung von Mepivacain ist auch in dieser hohen Konzentration reversibel.

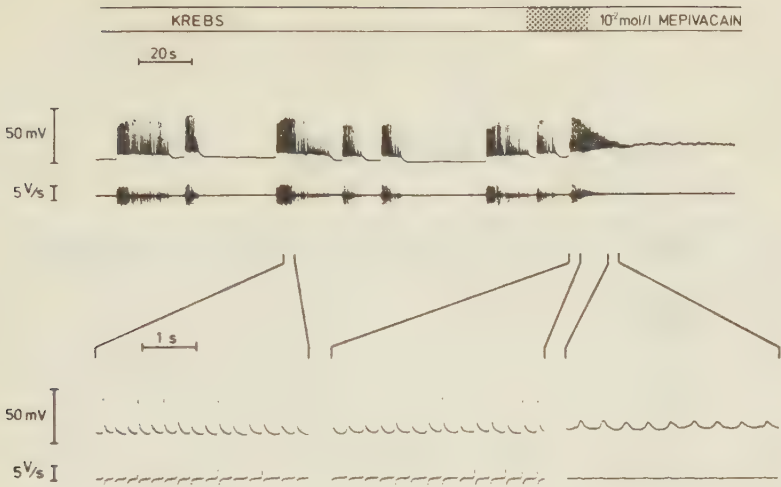


Abb. 19 A:

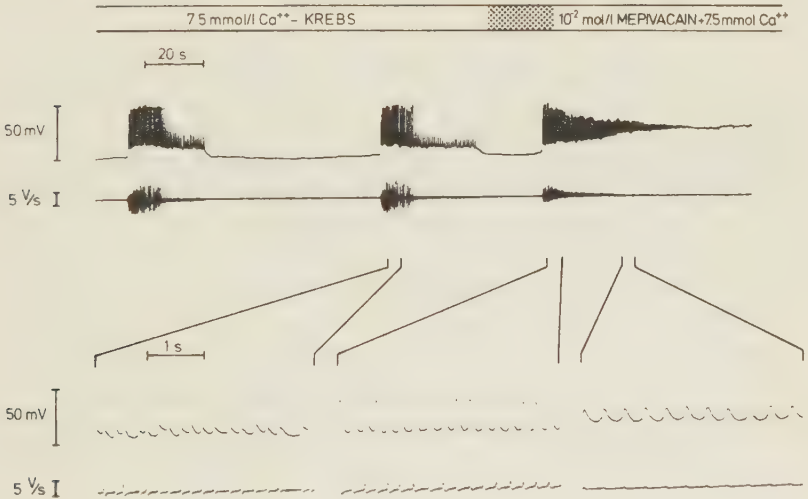


Abb. 19 B:

Abb. 19 A und B: Die beiden Abbildungen zeigen im direkten Vergleich die unterschiedlich starke Wirkung von Mepivacain auf die elektrische Spontanaktivität der *V. portae* bei normalem (2,5 mmol/l) und erhöhtem (7,5 mmol/l) Calciumgehalt der Inkubationslösung.

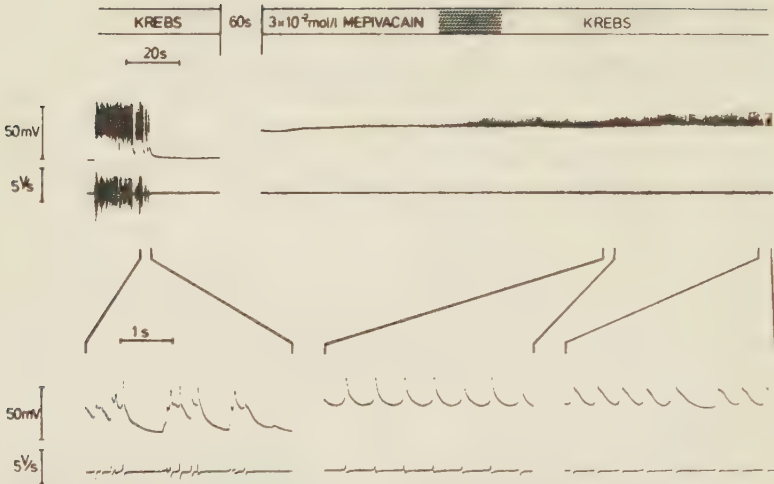


Abb. 20: Der Effekt von 3×10^{-2} mol/l Mepivacain auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae in KREBS-Lösung. Die Mikroelektrode wurde erst eine Minute nach Zugabe von Mepivacain in die Zelle eingestochen. Die Abbildung demonstriert die Reversibilität der Wirkung dieser hohen Konzentration des Lokalanästhetikums bei erneuter Umspülung des Gewebes mit physiologischer KREBS-Lösung.

4.6.3. Procain (Abb. 21 A, B, C und D)

Die Wirkung von Procain auf die elektrische Aktivität der V. portae wurde in den Konzentrationen 10^{-3} und 10^{-2} mol/l überprüft. Sie ist in den Abbildungen 12 A, B, C und D dargestellt.

10^{-3} mol/l Procain bewirkt eine geringfügige Abnahme der Spikesfrequenz von 99,5 pro Minute in KREBS auf 91,3 pro Minute. Die Burstfrequenz nimmt von 2,5 auf 3,0 pro Minute zu. Die durchschnittliche Burstdauer erhöht sich von 10,8 auf 15,0 Sekunden, während die Intervalldauer von 12,8 auf 6,8 Sekunden verkürzt wird. Die AP-Frequenz im Burst wird verringert. Während in KREBS im Burst durchschnittlich 3,8 Aktionspotentiale pro Sekunde abgefeuert werden, sinkt dieser Wert unter 10^{-3} mol/l Procain auf 2,4 AP pro Sekunde. Die Amplitude der Spikes nimmt geringfügig von 69,8 auf 65,7 mV ab. Die maximale Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit sinkt von 4,3 bzw. 4,7 $V \sec^{-1}$ auf 4,1 bzw. 4,0 $V \sec^{-1}$. Die Zellmembran erfährt eine leichte Depolarisation von - 64,0 auf - 62,8 mV. Die Amplitude der slow waves wird von durchschnittlich 30 mV auf 27 mV reduziert (Abb. 21 A).

Die Erhöhung der Konzentration auf 10^{-2} mol/l Procain (Abb. 21B) führt zu einer allgemeinen Frequenzerhöhung auf 125 AP pro Minute; die Spikes werden im Dauerfeuer generiert; die Bursts sind aufgelöst; die durchschnittliche Spikeamplitude beträgt 42 mV; Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes sind stark auf Werte von 1,3 bzw. 0,8 $V \sec^{-1}$ vermindert. Langsame Potentialänderungen treten jetzt nicht mehr auf. Das MP erreicht einen Wert von - 42,5 mV, was einer Depolarisation von 21,5 mV entspricht. Die Aktionspotentiale haben eine sehr gleichmäßige Konfiguration.

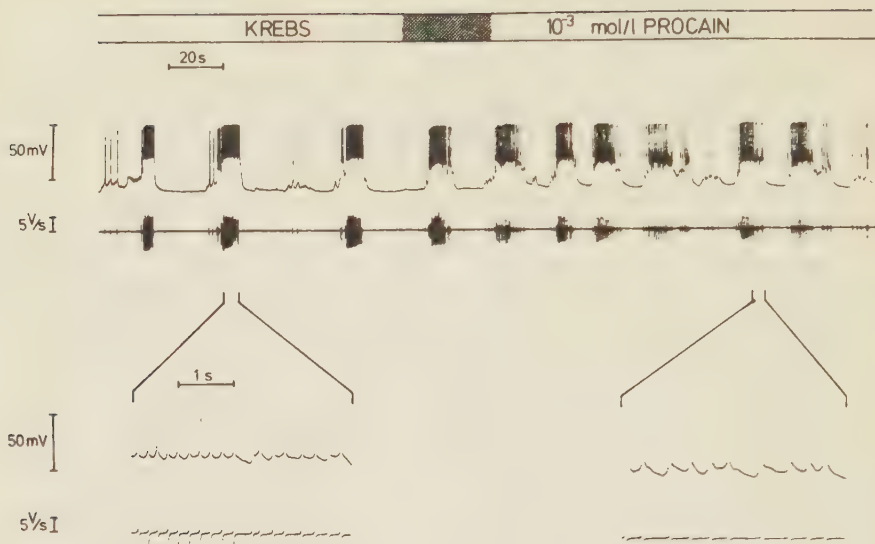


Abb. 21 A: Legende nach Abb. 21 D

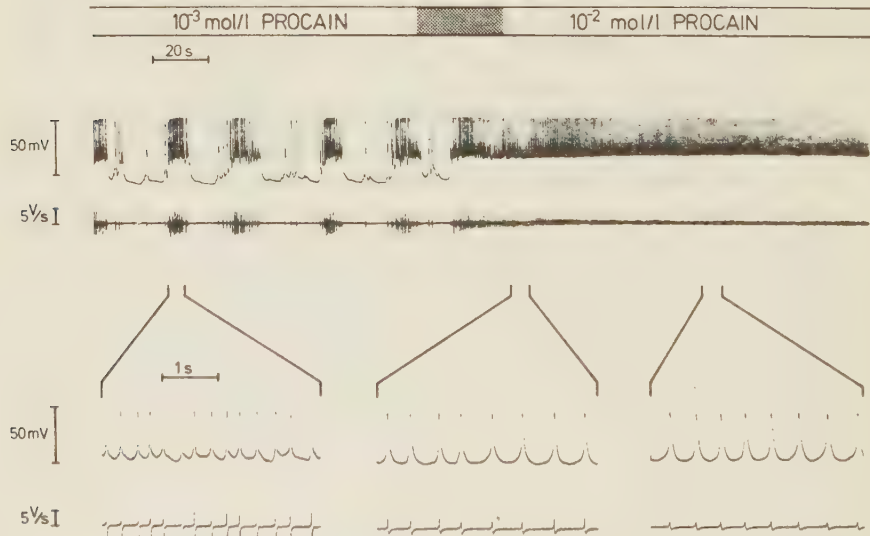


Abb. 21 B: Legende nach Abb. 21 D

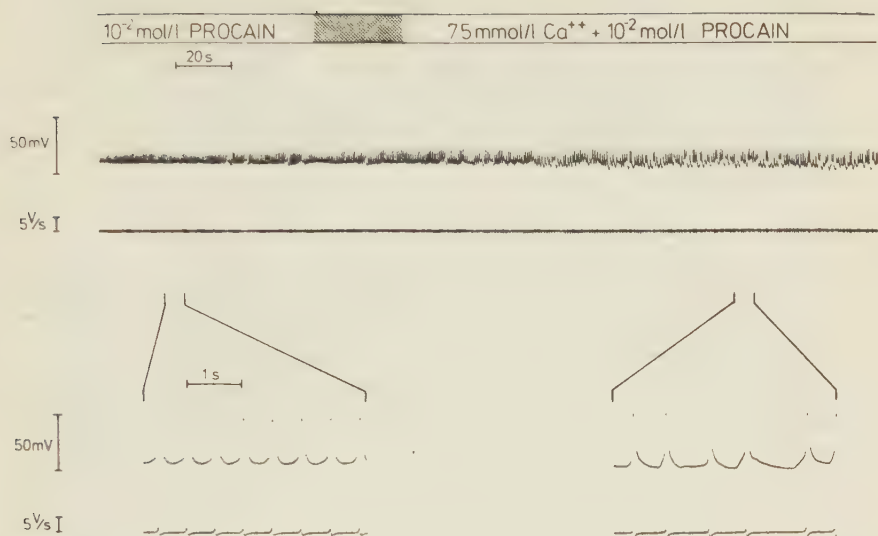


Abb. 21 C: Legende nach Abb. 21 D

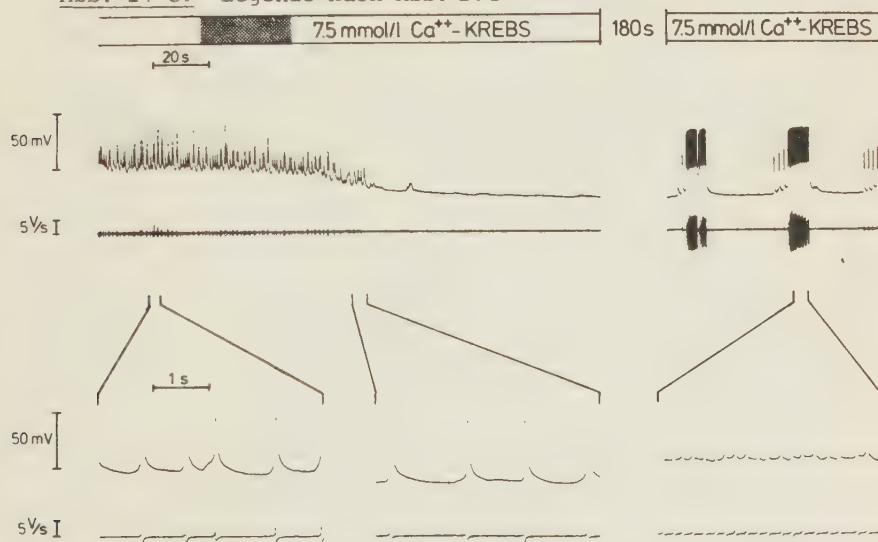


Abb. 21 D:

Abb. 21 A, B, C und D: Die vier Abbildungen stellen die fortlaufende Originalregistrierung einer Ableitung der intrazellulären elektrischen Aktivität der V.portae dar. Sie zeigen den Effekt zweier verschiedener Konzentrationen von Procain auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae und den Einfluß einer erhöhten Calciumkonzentration auf die Wirkung des Lokalanästhetikums. Der Versuch wurde in hyperosmolarer Lösung durchgeführt (446 mosmol/l). Nähere Erläuterungen finden sich im laufenden Text. Die Versuchsdaten sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

Wird der Ca-Gehalt im EZR auf 7,5 mmol/l gesteigert, so führt dies zu einer Frequenzabnahme auf 70,5 AP pro Minute. Die Spikeamplituden werden wieder höher und erreichen einen durchschnittlichen Wert von 55,5 mV. Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit steigen auf Werte von 3,3 bzw. 1,6 V sec⁻¹. Es erscheinen wieder slow waves mit Amplituden von maximal 10 mV. Die Membran repolarisiert auf durchschnittlich - 47,0 mV (Abb. 21 C).

Nach Lösungswechsel auf KREBS erscheint nach etwa drei Minuten wieder das ursprüngliche Muster der elektrischen Aktivität (Abb. 21 D).

Der in den Abbildungen 21 A, B, C und D demonstrierte Versuch wurde quantitativ ausgewertet. Tabelle 6 faßt die Resultate zusammen.

TAB. 6: Der Effekt von Procain (10^{-3} und 10^{-2} mol/l) auf die elektrische Spontanaktivität der isolierten V.portae und dessen Antagonisierung durch Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration auf 7,5 mmol/l.

	KREBS 2,5 mmol/l CaCl_2	PROCAIN 10^{-3} mol/l 2,5 mmol/l CaCl_2	PROCAIN 10^{-2} mol/l 2,5 mmol/l CaCl_2	PROCAIN 10^{-2} mol/l 7,5 mmol/l CaCl_2
	$\bar{x} \pm s$ (n)	$\bar{x} \pm s$ (n)	$\bar{x} \pm s$ (n)	$\bar{x} \pm s$ (n)
RMP (mV)	-63,66 $\pm$ 3,61 (8)	-62,25 $\pm$ 0,9 (8)	-42,5 $\pm$ 0,4 (8)	-47,0 $\pm$ 0,7 (8)
AP-Frequenz (min^{-1})	99,5 $\pm$ 29,7 (8)	91,3 $\pm$ 21,7 (8)	125,7 $\pm$ 10,9 (8)	70,5 $\pm$ 0,7 (8)
Burstfrequenz (min^{-1})	2,5	3,0	--	--
Burstdauer (sec)	10,8 $\pm$ 3,0 (11)	15,0 $\pm$ 6,0 (12)	--	--
Intervalldauer (sec)	12,8 $\pm$ 4,6 (10)	6,8 $\pm$ 2,8 (12)	--	--
AP-Frequenz im Burst (sec^{-1})	3,8 $\pm$ 0,9 (10)	2,4 $\pm$ 0,4 (12)	--	--
Amplitude d. AP (mV)	69,77 $\pm$ 3,5 (118)	65,7 $\pm$ 3,7 (107)	42,1 $\pm$ 0,8 (74)	55,5 $\pm$ 1,2 (66)
Anstiegsge- schwindigkeit (V sec^{-1})	4,3 $\pm$ 0,5 (95)	4,1 $\pm$ 0,75 (96)	1,3 $\pm$ 0,2 (66)	3,3 $\pm$ 0,5 (62)
Abstiegsge- schwindigkeit (V sec^{-1})	4,7 $\pm$ 0,3 (95)	4,0 $\pm$ 0,5 (96)	0,8 $\pm$ 0,2 (60)	1,6 $\pm$ 0,25 (62)
slow waves (mV)	30,1 $\pm$ 2,2 (30)	27,1 $\pm$ 2,9 (30)	--	5 - 10

-- = Ereignis tritt nicht auf

4.6.4. Tocainid (Abb. 22, 23)

Die Wirkung des Antiarrhythmikums Tocainid auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae wurde bei verschiedenen Konzentrationen untersucht.

Eine Konzentration von 6×10^{-3} mol/l Tocainid hemmt die Spike-generation nach 90 Sekunden vollständig. Gleichzeitig wird die Membran von - 58,7 auf -52,0 mV depolarisiert. Die Erhöhung der extrazellulären Ca-Konzentration auf 7,5 mmol/l führt zum Wiederauftreten von langsamen Spikes in einer Frequenz von 93 pro Minute. Ihre Amplitude variiert zwischen 10 und 24 mV, die Werte der differenzierten Funktion liegen durchschnittlich unter 1 V sec^{-1} . Die schnellsten Spikes erreichen eine Anstiegsgeschwindigkeit von $1,7 \text{ V sec}^{-1}$ bzw. eine Abstiegsgeschwindigkeit von 1 V sec^{-1} . Das Membranpotential weist wellenförmige Schwankungen von 3 bis 10 mV auf. Dadurch wird die elektrische Aktivität in Komplexe von je 6 bis 10 Spikes unterteilt.

Nochmalige Steigerung des Ca-Gehaltes im EZR auf 15 mmol/l bewirkt eine weitere Antagonisierung des Tocainideffektes (Abb. 22 B und C). Das Membranpotential erhöht sich dabei nur unwesentlich. Die AP-Frequenz beträgt jetzt 97 Spikes pro Minute. Die Amplitude der Spikes wird deutlich auf 36 mV erhöht. Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit erreichen Werte von 2,7 bzw. $2,0 \text{ V sec}^{-1}$. Das RMP ist zunächst relativ konstant. Mit zunehmender Einwirkungsdauer der hohen Calciumkonzentration treten vermehrt slow waves auf, die Frequenz der Aktionspotentiale nimmt etwas ab (Abb. 22 C).

Die quantitative Auswertung des Versuches, der durch die Abbildungen 22 A, B und C dokumentiert wird, faßt Tabelle 7 zusammen.

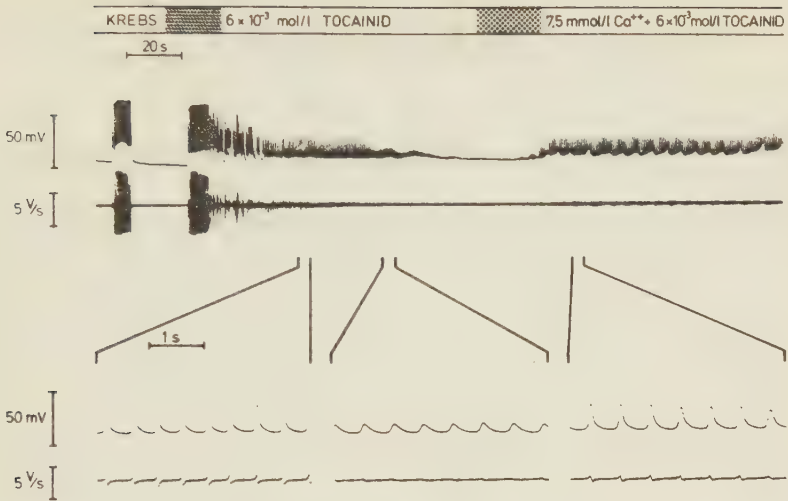


Abb. 22 A: Legende nach Abb. 22 C

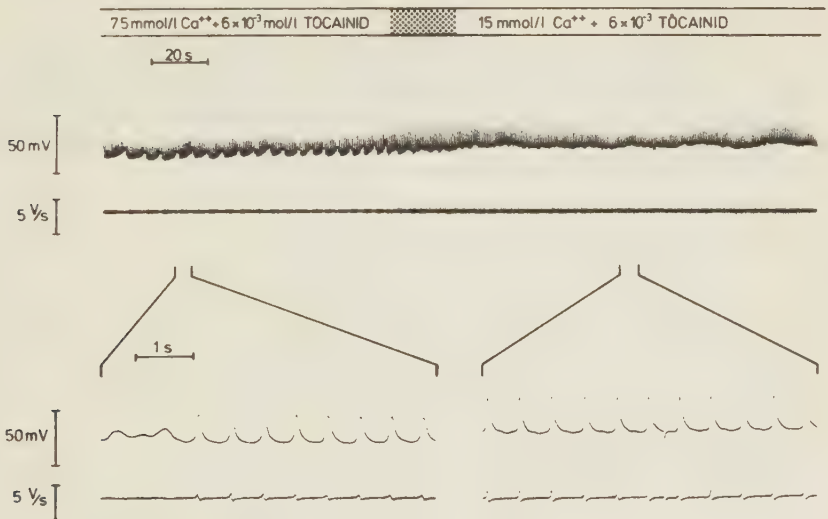


Abb. 22 B: Legende nach Abb. 22 C

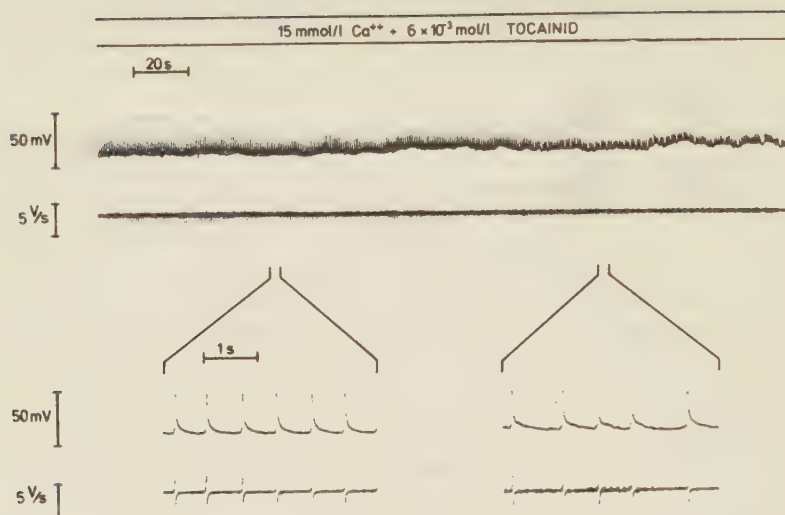


Abb. 22 C:

Abb. 22 A, Bund C: Die Abbildungen zeigen in fortlaufender Originalregistrierung die Wirkung des Antiarrhythmikums Tocainid auf die elektrische Aktivität der V.portae. Durch Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration auf 7,5 bzw. 15,0 mmol/l kommt es zur Antagonisierung des Tocainid-Effektes.

TAB. 7: Der Effekt von Tocainid (6×10^{-3} mol/l) auf die elektrische Spontanaktivität der isolierten V. portae und dessen Antagonisierung durch Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration auf 7,5 bzw. 15,0 mmol/l.

	KREBS	TOCAINID 6×10^{-3} mol/l 2,5 mmol/l CaCl_2	TOCAINID 6×10^{-3} mol/l 7,5 mmol/l CaCl_2	TOCAINID 6×10^{-3} mol/l 15,0 mmol/l CaCl_2
	$\bar{x} \pm s (n)$	$\bar{x} \pm s (n)$	$\bar{x} \pm s (n)$	$\bar{x} \pm s (n)$
RMP (mV)	$-58,7 \pm 1,0 (8)$	$-52,0 \pm 1,3 (8)$	$-52,4 \pm 0,8 (8)$	$-53,1 \pm 0,7 (2)$
AP-Frequenz (min ⁻¹)	$166,2 \pm 22,4 (3)$	$--^1)$	$93 \pm 18,4 (3)$	$98 \pm 16,3 (3)$
Burstfrequenz (min ⁻¹)	3	$--^1)$	$--^2)$	$--^2)$
Burstdauer (sec)	$11,3 \pm 3,3 (6)$	$--^1)$	$--^2)$	$--^2)$
Intervalldauer (sec)	$9,5 \pm 2,1 (6)$	$--^1)$	$--^2)$	$--^2)$
AP-Frequenz im Burst (sec ⁻¹)	$4,8 \pm 0,3 (6)$	$--^1)$	$--^2)$	$--^2)$
Amplitude d. AP (mV)	$54,2 \pm 5,4 (80)$	$--^1)$	$19,4 \pm 5,2 (50)$	$36,3 \pm 1,1 (49)$
Anstiegsge- schwindigkeit (V sec ⁻¹)	$5,4 \pm 0,3 (59)$	$--^1)$	1	$2,7 \pm 1,1 (53)$
Abstiegsge- schwindigkeit (V sec ⁻¹)	$4,6 \pm 0,2 (59)$	$--^1)$	1	$2,0 \pm 0,2 (53)$
slow waves (mV)	15-20	$--^1)$	3 - 10	5 - 10

1) = Dauerdepolarisation mit Sistieren der Spikegeneration (Depolarisationsblock)

2) = Dauerspikegeneration

In einer Konzentration von 3×10^{-3} mol/l führt Tocainid noch nicht zu einer vollständigen Inhibition der elektrischen Spontanaktivität der isolierten V.portae. Diese Dosis verursacht eine durchschnittliche Depolarisation der Membran um 22 mV, die Spikes werden im Dauerfeuer gebildet, wobei ihre Amplitude auf Werte zwischen 18 und 22 mV reduziert ist. Der Ablauf der Aktionspotentiale ist verlangsamt. Die Werte der differenzierten Funktion liegen beide unter 1 V sec^{-1} (Versuch nicht abgebildet).

Eine Konzentration von 10^{-2} mol/l Tocainid bewirkt nach kurzer Zeit ein Sistieren der Spikeaktivität. Die Membran wird um 31 mV depolarisiert. Die Verdreifachung des extrazellulären Ca-Gehaltes (7,5 mmol/l) kann bei dieser hohen Tocainid-Konzentration die Spikeaktivität nicht aufrechterhalten. Es kommt in dem Versuch, der durch die Abbildungen 23 A und B demonstriert wird, zu einer starken Membrandepolarisation von -65 auf -18 mV. Nach erneuter Inkubation der V.portae in KREBS-Lösung mit 7,5 mmol/l CaCl_2 tritt wieder elektrische Spontanaktivität auf. Dabei ist zu erkennen, daß die Intervalldauer zwischen den Bursts in dieser Phase, bezogen auf das ursprüngliche Muster, stark verlängert ist (Abb. 23 B). Nach längerer Umspülung des Gewebes mit der Lösung werden die Intervalle wieder kürzer. Sie erreichen die gleichen Werte wie vor der Applikation des Antiarrhythmikums.

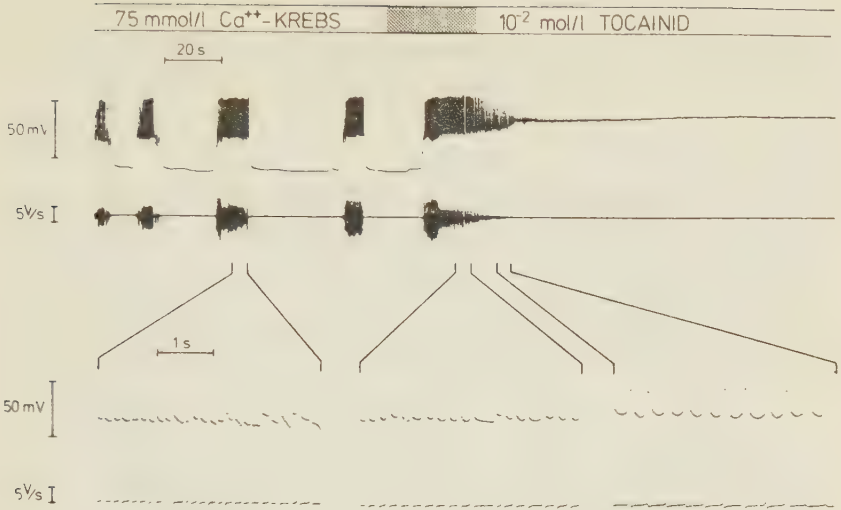


Abb. 23 A:

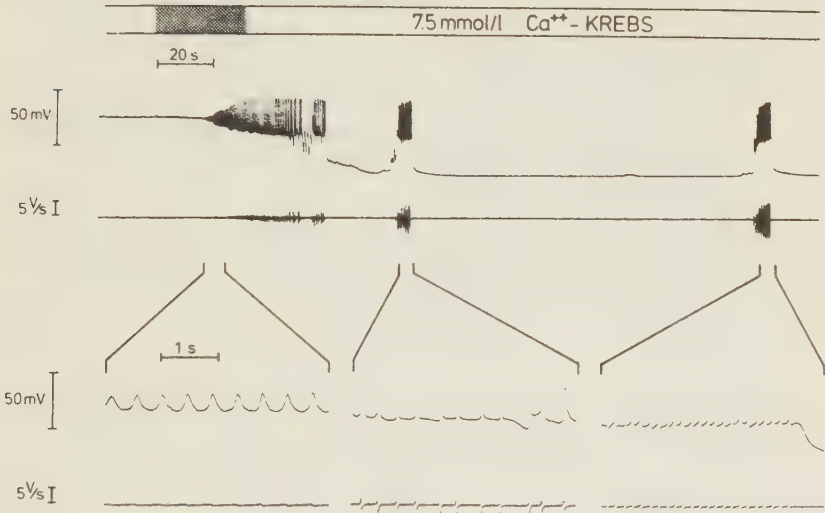


Abb. 23 B:

Abb. 23 A und B: Der Effekt von Tocainid (10^{-2} mol/l) auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae in einer Inkubationslösung mit erhöhter Calciumkonzentration.

Zusammenfassend kann über die Wirkung der Lokalanästhetika Mepivacain, Prilocain, Procain und des Antiarrhythmikums Tocainid auf die Spontanaktivität der isolierten V. portae folgendes gesagt werden:

- 1) Die genannten Pharmaka unterscheiden sich in ihrer Wirkstärke, nicht jedoch in ihrer Wirkungsqualität.
- 2) Die beschriebenen Veränderungen der elektrischen Aktivität lassen sich gut der Beeinflussung der isometrischen Kraftentwicklung zuordnen.
- 3) Niedrige Konzentrationen verursachen eine Zunahme der AP-Frequenz und der Burstfrequenz. Dies ist verbunden mit einer erhöhten phasischen mechanischen Aktivität.
- 4) Höhere Konzentrationen lösen die minutenrhythmische Modulation auf und bewirken Dauerspikegeneration. Ein erhöhter Tonus ist die Folge. Gleichzeitig nimmt die Amplitude der phasischen Komponente der Kontraktion ab.
- 5) Sehr hohe Konzentrationen hemmen die elektrische Impulsentladung und führen zu einer Erschlaffung des Präparates. Sowohl phasische als auch tonische Kraftentwicklung werden unterdrückt.
- 6) Eine Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration führt zu einer Abschwächung der Wirkung von Mepivacain, Prilocain, Procain und Tocainid.

4.7. DIE WIRKUNG DER IONOPHORE A 23187 AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Bei einer Konzentration der Ionophore von 5×10^{-6} mol/l wurde das Verhalten der V. portae beobachtet (Abb. 24). Die Ionophore bewirkt eine Membrandepolarisation, die mit einer Verkürzung der Burstintervalle und einer Erhöhung der Burstfrequenz gekoppelt ist. Schließlich kommt es zur Dauerspikesaktivität. Die Spikeamplituden werden leicht vermindert. Die Werte der differenzierten Funktion werden nicht wesentlich verändert.

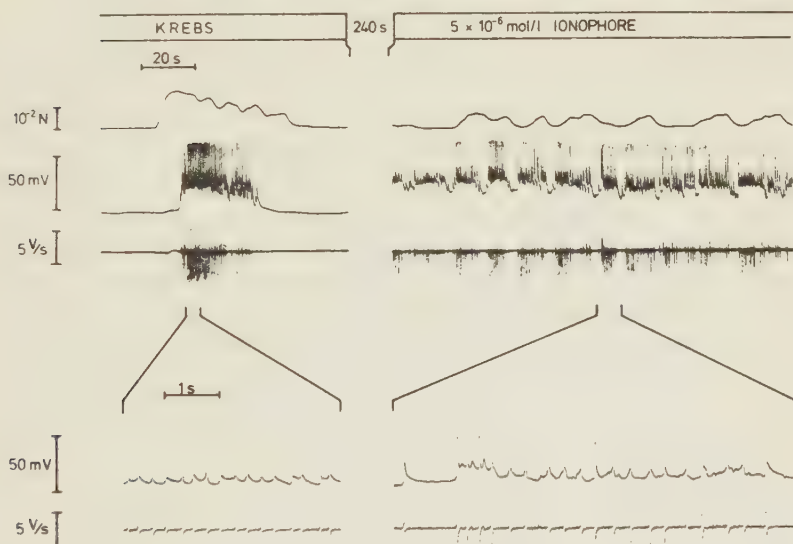


Abb. 24: Der Effekt der Ionophore A 23187 (5×10^{-6} mol/l) auf die elektrische und mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae in KREBS-Lösung.

Die Kontraktionsamplitude nimmt unter dem Einfluß der Ionophore ab. Es folgt eine erhöhte phasische Aktivität. Die typischen rhythmischen Kontraktionskomplexe werden analog zu den Bursts aufgelöst. Dafür kommt es zu vielphasigen Kontraktionen mit kleiner Amplitude (Abb. 24).

Durch Steigerung der extrazellulären Calciumkonzentration auf 7,5 mmol/l kann der Effekt der Ionophore abgeschwächt werden. Die Burstintervalle werden wieder größer, die Depolarisation nimmt etwas ab. Die Dauer der phasischen Kontraktionskomplexe erhöht sich bei verminderter Frequenz und vergrößerter Amplitude. Eine vollständige Antagonisierung der Ionophoren-Wirkung durch Steigerung der extrazellulären Calciumkonzentration kann nicht beobachtet werden (ohne Abbildung).

4.8. DER EFFEKT EINER INKUBATION IN NATRIUM-FREIEN LÖSUN- GEN AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Bei diesen Untersuchungen wurden zwei verschiedene Lösungen verwendet, in denen jeweils das gesamte Natrium isoosmotisch durch Saccharose ersetzt worden war. Die genaue Zusammensetzung dieser Lösungen ist im Abschnitt Material und Methodik beschrieben.

4.8.1. Ca - 2,5 (Abb. 25 und 26)

Wird die Pfortader von dieser Lösung umspült, so kommt es bald zu einer starken Hyperpolarisation der Membran um 30 - 40 mV. In der Phase der Hyperpolarisation werden keine Aktionspotentiale gebildet. Nach etwa 50 bis 60 Sekunden beginnt eine langsame Depolarisation. Etwa 30 Sekunden später kommt es zu einer plötzlichen, spikeähnlichen Depolarisation, die gefolgt wird von einer hochfrequenten Salve schneller Depolarisationen, deren Amplituden immer kürzer werden. Die dazwischenliegende Repolarisation wird immer geringer. Nach kurzer Zeit (15 bis 20 Sekunden) sistiert die Spikegeneration. Der Wert des MP liegt dabei 20 bis 30 mV über dem RMP in KREBS. Dies kann als Depolarisationsblock angesehen werden. In allen durchgeführten Versuchen konnte die Dauerdepolarisation durch eine erneute Umspülung des Präparates mit KREBS zugunsten des physiologischen Aktivitätsmusters aufgelöst werden.

In der folgenden Versuchsreihe wurden der Ca-2,5-Lösung jeweils geringe Mengen NaCl zugesetzt. Schon 3 mmol/l NaCl schwächen die Hyperpolarisation ab. Die Dauerdepolarisation tritt erst zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt ein, die Spikeaktivität wird deutlich länger aufrechterhalten (Abb. 26 A). Höhere Konzentrationen von NaCl in der Ca-2,5-Lösung haben qualitativ einen ähnlichen Effekt. Bei 9 mmol/l NaCl ist die Hyperpolarisation noch wesentlich geringer ausgeprägt, der Eintritt des Depolarisationsblockes noch länger hinausgeschoben

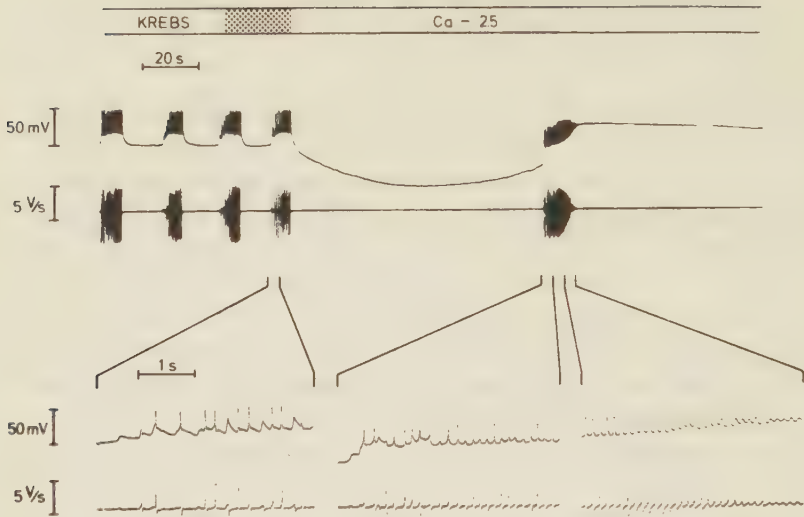


Abb. 25: Das Verhalten der elektrischen Spontanaktivität der *V. portae* in Ca-2,5 -Lösung. Ca-2,5 ist eine Natrium-freie Lösung mit physiologischem Calciumgehalt (2,5 mmol/l). Die Lösung ist arm an Chlorid (7,4 mmol/l).

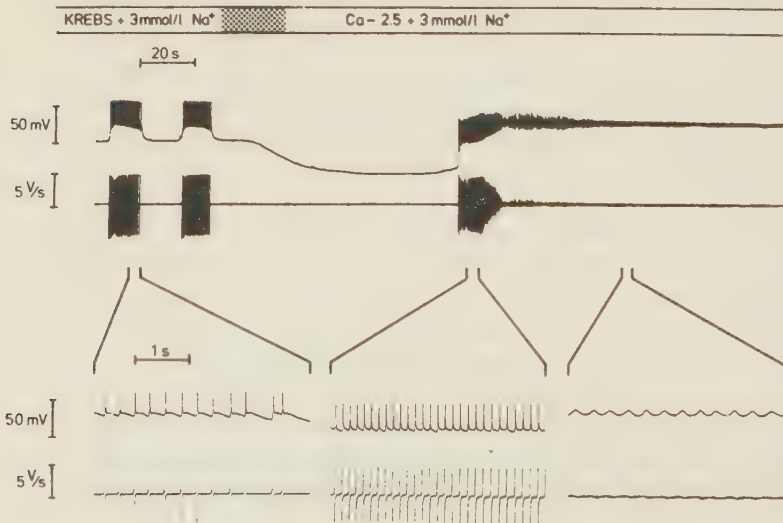


Abb. 26 A: Das Verhalten der elektrischen Spontanaktivität der *V. portae* in Ca-2,5 -Lösung, der 3 mmol/l NaCl hinzugefügt waren.

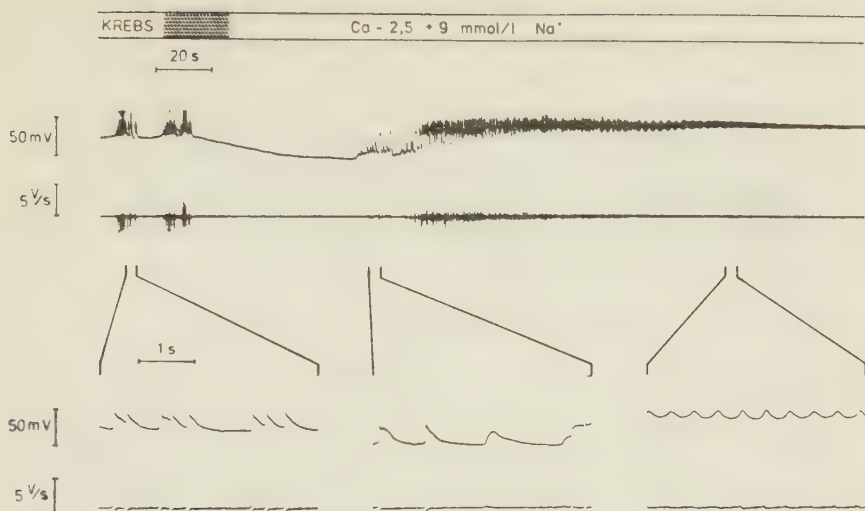


Abb. 26 B: Die elektrische Spontanaktivität der V.portae in Ca-2,5-Lösung, der 9 mmol/l NaCl hinzugefügt waren.

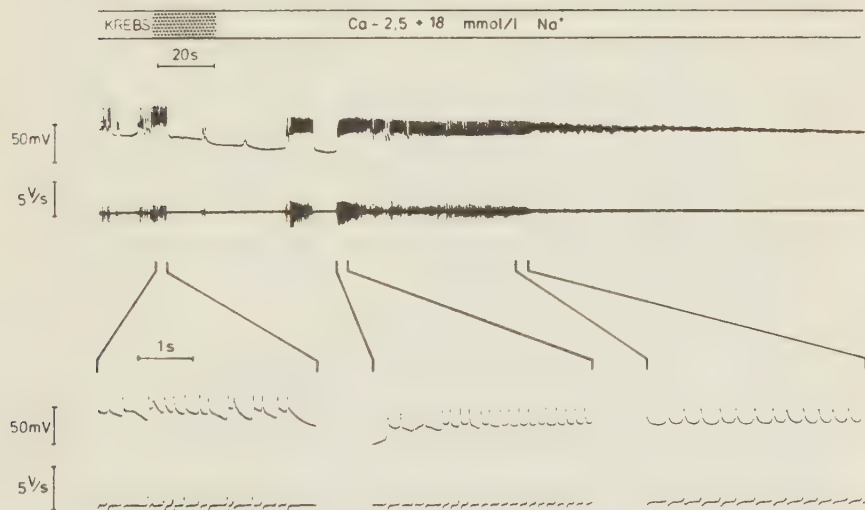


Abb. 26 C: Die elektrische Spontanaktivität der V.portae in Ca-2,5-Lösung, der 18 mmol/l NaCl hinzugefügt waren.

(Abb. 26 B). In Ca-2,5-Lösung mit 18 mmol/l NaCl tritt gerade noch eine - wenn auch sehr geringe - Hyperpolarisation auf. Dabei kommt es auch nicht zu einem völligen Sistieren der Spikeaktivität über einen längeren Zeitraum. Die Aktionspotentiale werden zunächst noch in Bursts abgefeuert (Abb. 26 C). Schließlich stellt sich Spikedaueraktivität mit zunehmender Amplitudenverkürzung ein und erst nach relativ langer Zeit tritt ein Depolarisationsblock auf (Abb. 26 C).

3.8.2. Ca - 66 (Abb. 27 A und B)

Mit Hilfe dieser Lösung sollte der Effekt einer exzessiven Calcium-Konzentration (66 mmol/l) auf die elektrische Aktivität der V.portae in Natrium-freier Lösung, bei Wahrung der physiologischen Chlorid-Konzentration, registriert werden. Prinzipiell findet sich hier ein ähnliches Resultat wie in Ca-2,5-Lösung. Charakteristisch verändert ist aber der Zeitverlauf der ablaufenden Reaktionen (Abb. 27 A): Sofort nach Inkubation in Ca - 66 kommt es zu einer Hyperpolarisation von 20 bis 30 mV. Dabei sistiert die Spikeaktivität. Die Hyperpolarisation erreicht schnell ein Maximum. Es folgt eine sehr langsame aber stetige Depolarisation, die das Potential wieder auf das Niveau des RMP in KREBS zurückbringt. Dieser Wert ist nach 150 bis 170 Sekunden erreicht. Zu diesem Zeitpunkt treten schnelle Aktionspotentiale auf, die durch Schrittmacherpotentiale (langsame, linear ansteigende Depolarisationen) ausgelöst werden. Sie zeichnen sich durch große Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeiten aus. Der untere Abschnitt von Abschnitt von Abbildung 27 A veranschaulicht diesen Effekt.

Infolge einer zunehmenden Membrandepolarisation wird die Spikeamplitude immer kleiner. Nach 75 Sekunden dauernder Aktivität sistiert die Spikegeneration und eine Dauerdepolarisation ist die Folge. Das MP hat jetzt einen Wert von etwa - 20 mV.

Auch nach der Einwirkung von Ca - 66 auf die isolierte Pfortader ist es möglich, durch einen Lösungswechsel auf KREBS das physiologische elektrische Aktivitätsmuster zu regenerieren (Abb. 27 B).

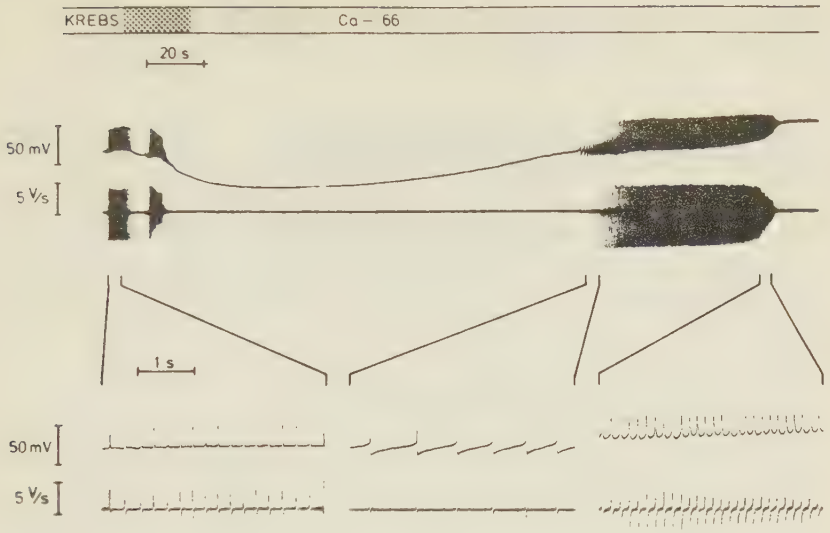


Abb. 27 A: Das Verhalten der elektrischen Spontanaktivität der V.portae in Ca-66-Lösung. Ca-66 ist eine Natrium-freie Lösung mit exzessivem Calciumgehalt (65,9 mmol/l) und physiologischem Chloridgehalt (134,2 mmol/l).

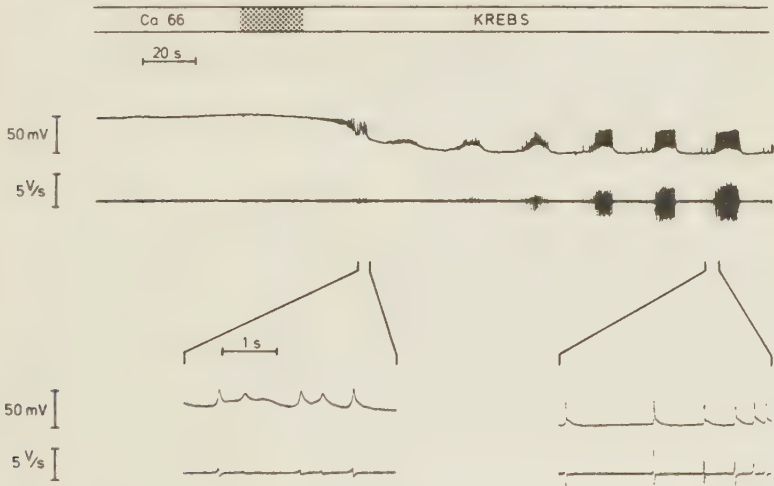


Abb. 27 B: Regeneration des normalen Musters der elektrischen Aktivität der V.portae nach Inkubation in Ca-66.

4.9. DIE WIRKUNG VON OUABAIN AUF DIE ELEKTRISCHE SPONTAN- AKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Ouabain wurde in einer Konzentration von 10^{-5} mol/l auf die isolierte Pfortader appliziert. Diese Konzentration bewirkt zunächst eine hochfrequente Dauerspikegeneration, verbunden mit einer Membrandepolarisation. Die Änderung der einzelnen Parameter der Spontanaktivität im Zeitverlauf der Inkubation wird im folgenden beschrieben und in einer Tabelle zusammengefaßt (Abb. 28 A und B; Tab. 8).

1) Die Änderung des Membranpotentials

Das RMP in KREBS beträgt -64 mV. Nach 60 Sekunden bewirkt Ouabain eine Depolarisation auf -43 mV. Dabei verschwindet die rhythmische Modulation in Form von Bursts. Der Grad der Depolarisation steigt im weiteren Verlauf noch an: Nach 2 Minuten sind -38 mV, nach 3 Minuten -37 mV und damit der Maximalwert der Depolarisation erreicht. Mit zunehmender Inkubationsdauer repolarisiert die Membran. Nach 9 Minuten werden -46 mV, nach 11 Minuten -56 mV gemessen. Weitere 11 Minuten später ergibt sich ein Wert von -65 mV. Im folgenden Zeitraum bleibt der Wert im Bereich von -64 bis -66 mV. Damit ist das ursprüngliche RMP wieder erreicht, ohne jedoch rhythmische Modulation (slow waves) aufzuweisen.

2) Das Verhalten der AP-Frequenz

In KREBS beträgt die AP-Frequenz im Burst 3,7 pro Sekunde; die Gesamtfrequenz liegt bei 1,5 pro Sekunde. Nach 60 Sekunden führt Ouabain zu einer Steigerung der Gesamtfrequenz auf $4,25 \text{ sec}^{-1}$. Hier ist der Maximalwert erreicht. In der Folgezeit fällt die Frequenz konstant ab. Nach 9 Minuten wird 1 AP pro Sekunde, nach 19 Minuten nur noch 0,4 AP pro Sekunde abgefeuert. Weitere drei Minuten später treten keine Aktionspotentiale mehr auf.

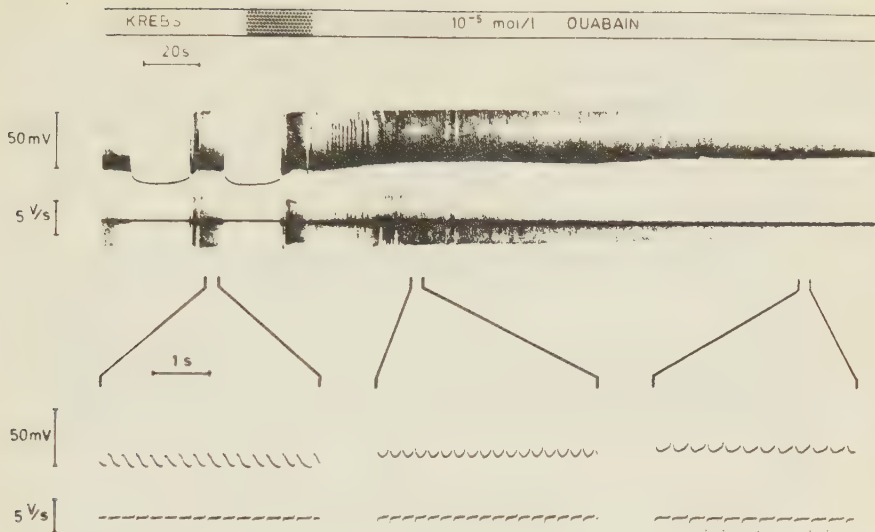


Abb. 28 A:

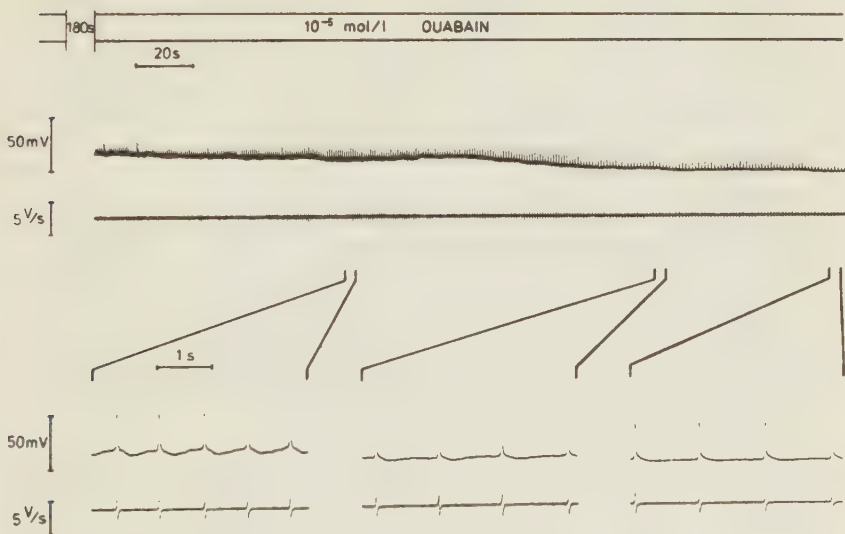


Abb. 28 B:

Abb. 28 A und B: Die beiden Abbildungen demonstrieren den Effekt von Ouabain (g-Strophantin) auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae in KREBS-Lösung.

3) Die Veränderung der Spikeamplituden

In KREBS werden Amplituden von 66 bis 68 mV gemessen. Nach einer Einwirkungszeit von 60 Sekunden sind sie durch Ouabain auf 46 bis 48 mV reduziert. Diese Amplitudenabnahme setzt sich konstant über den langen Zeitraum fort bis zum letzten Spike, der noch einen Wert von 25 mV aufweist.

4) Die Veränderung der Werte der differenzierten Funktion dU/dt

Die Werte der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit liegen in KREBS-Lösung beide knapp über 4 Vsec^{-1} . Mit zunehmender Inkubationsdauer in 10^{-5} -molarer Ouabainlösung fallen die Werte kontinuierlich, bis sie nach 19 Minuten unter 1 Vsec^{-1} liegen.

5) Das Verhalten der isometrischen Kraftentwicklung (ohne Abb.)

10^{-5} mol/l Ouabain bewirkt sofort einen starken tonischen Spannungsanstieg, ohne weitere phasische Aktivität. Im folgenden Zeitverlauf fällt die tonische Spannung (analog zur Spikefrequenz) ab, wobei es zum Wiederauftreten von schwachen phasischen Kontraktionen kommt. Diese verschwinden schließlich wieder, und das Präparat erschlafft zusehends.

Zusammenfassend ergibt sich folgendes Bild über die Wirkung des Ouabain auf die Spontanaktivität der V.portae: Zunächst tritt eine AP-Frequenzsteigerung, verbunden mit Membrandepolarisation und starker tonischer Kraftentwicklung auf. Später nimmt die AP-Frequenz stetig ab, begleitet von zunehmender Repolarisation, kontinuierlicher Spikeamplitudenreduktion und langsamer Erschlaffung des Präparates.

Tabelle 8 gibt einen Überblick der im Text beschriebenen Resultate.

Tab. 8: Der Effekt von Ouabain (10^{-5} mol/l) auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae im Zeitverlauf von 22 Minuten. Tabellarische Darstellung eines typischen Versuches (siehe auch Abb. 28 A und B).

Inkubationszeit	(min)	KREBS										OUABAIN 10^{-5} mol/l									
		1	2	3	7	9	11	19	20	22											
Membranpotential	(mV)	-64	-38	-37	-38	-46	-56	-59	-61	-65											
AP-Frequenz	(sec^{-1})	4,25 ¹⁾ 3,7 ²⁾	3,9	3,5	1,35	1,0	0,8	0,4	3)	0											
Spikeamplitude	(mV)	67	40	40	40	36	34	28	25	4)											
Anstiegs- geschwindigkeit	(V sec^{-1})	> 4	< 4	< 2,5	< 2	< 1,5	< 1,5	< 1	< 1	4)											
Abstiegs- geschwindigkeit	(V sec^{-1})	> 4	< 3,5	< 2,5	< 2	< 1,5	< 1	< 1	< 1	4)											

1) = Gesamtfrequenz (unter Berücksichtigung der Ruheintervalle)

2) = AP-Frequenz im Burst (Anzahl der AP pro Burstdauer)

3) = einzelner letzter Spike

4) = Ereignis tritt nicht auf

5. DISKUSSION

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die elektrische Aktivität der isolierten V.portae des Meerschweinchens mittels der intrazellulären Meßtechnik abgeleitet. Die Mikroelektroden-technik ist sehr gut geeignet, Langzeitableitungen der elektrischen Aktivität an der Pfortader durchzuführen. Im Gegensatz zu extrazellulären Ableitetechniken liefert die intrazelluläre Potentialableitung relativ genaue absolute Werte der einzelnen Parameter der elektrischen Aktivität. Wegen des hohen technischen Aufwandes, der für intrazelluläre Ableitungen Voraussetzung ist, findet die extrazelluläre Ableitetechnik eine wesentlich häufigere Anwendung (2,3, 10, 12,14,34, 74, 125) als die intrazelluläre Mikroelektroden-technik. So wurden an der Portalvene des Meerschweinchens nur vereinzelt intrazelluläre Potentialableitungen durchgeführt (60, 68, 91). Deshalb können den eigenen intrazellulären Meßergebnissen in der Diskussion häufig keine vergleichbaren Resultate gegenübergestellt werden.

Mit der extrazellulären Saccharose-Trennwand-Technik können keine absoluten Angaben über den Wert des RMP und seiner Änderungen gemacht werden. Ihre Empfindlichkeit ist sehr gering; daher ist auch die Interpretation der Versuchsergebnisse problematisch. Weiterhin wird das Präparat bei dieser Methode einer hochprozentigen Saccharose-Lösung ausgesetzt, um einen Kurzschluß zwischen den beiden externen Elektroden zu verhindern. Dadurch besteht die Gefahr einer Beeinträchtigung der physiologischen Reaktionsfähigkeit des Präparates. Bei der intrazellulären Meßtechnik ist es im Gegensatz dazu nicht nötig, das Präparat derartig artifiziellen Inkubationsbedingungen auszusetzen.

Nach schonender Präparation und Fixation des Präparates auf dem Halter (Abb. 2) zeigt die isolierte Pfortader Spontanktivität im Minutenrhythmus, d.h. das elektrische Aktivitätsmuster wird durch alternatives Auftreten von Bursts und Ruheintervallen repräsentiert. Präparate, die während der Entnah-

me übermäßig gedehnt wurden, zeigen diese Minutenrhythmik nicht. Somit ist bei der von uns gewählten Methodik das Auftreten der Minutenrhythmik eine Kontrolle für eine sachgemäße Präparation und ein Hinweis auf eine relativ physiologische Reaktionsfähigkeit des isolierten Pfortaderpräparates. Dies steht in völligem Einklang mit den von GOLENHOFEN und v.LOH (60) an der V.portae des Meerschweinchens gemachten Beobachtungen. Auch sie halten das Auftreten der Minutenrhythmik für einen Indikator sachgemäßer Präparation und physiologischer Reaktionsfähigkeit des isolierten Organpräparates. Versuchsergebnisse, die an Präparaten gewonnen werden, die statt der minutenrhythmisch modulierten Burstaktivität Dauerspikesaktivität aufweisen (vgl. Abb.8), sind auch nach ihrer Meinung nur mit Vorsicht zu interpretieren.

Das RMP der glatten Muskelzelle der V.portae hat einen durchschnittlichen Wert von $-58,9 \pm 3,3$ mV. Das von uns ermittelte RMP liegt damit höher als es von anderen Autoren (68, 91) beschrieben wird. Dies kann als Hinweis dafür gelten, daß die Eigenschaften der von uns hergestellten Mikroelektroden eine saubere Penetration der Zellmembran gewährleisten, ohne diese dabei in größerem Ausmaß zu verletzen. Denn je größer die Zellmembranverletzung bei der Penetration ist, desto stärker sind die entstehenden Leckströme, die zu einer Diskrepanz zwischen dem tatsächlichen Potentialwert und dem gemessenen Wert führen. Unser relativ hoher Meßwert zeigt, daß dieser Fehler bei uns kleiner ist als in anderen Untersuchungen (68, 91). Darüber hinaus ist die geringe Standardabweichung ein Beweis für die Gleichmäßigkeit der Elektroden Eigenschaften über den gesamten Zeitraum der Untersuchungen.

Das Membranpotential der V.portae ist nicht stabil, sondern unterliegt spontan auftretenden charakteristischen Schwankungen. Folgende, sich in Zeitverlauf und Amplitude unterscheidende Komponenten wurden von uns ermittelt: Minutenrhythmische sinusförmige Fluktuationen (slow waves), elektrotonische Potentiale, Schrittmacherpotentiale und Aktionspotentiale (Spikes).

Die minutenrhythmischen sinusförmigen Fluktuationen - slow waves - stellen langsame Depolarisationen des MP dar. Die Frequenz dieser Änderungen liegt bei durchschnittlich $1,7 \text{ min}^{-1}$. Die dabei erreichte Größe der Depolarisation ist $24,8 \pm 3,9 \text{ mV}$. Dies ist vergleichbar mit den von GOLENHOFEN und v.LOH (60) angegebenen Werten. Sie beschreiben Frequenzen von 0,5 bis 2 min^{-1} und Amplituden von 10 bis 30 mV. Die Depolarisation während der slow waves dauert nach unseren Messungen $19,4 \pm 8$ Sekunden. Nach dieser Zeit wird wieder der Ausgangswert des RMP erreicht; er bleibt dann für eine Zeit von $16,4 \pm 5,9$ Sekunden annähernd konstant (Tab. 2).

Das elektrotonische Potential (Abb.8) stellt eine unregelmäßig spontan auftretende Depolarisation des MP mit einer Dauer von weniger als einer Sekunde und einer Amplitude von 5 bis 10 mV dar. Es kann nicht bei allen Zellpunktionen beobachtet werden. Hinsichtlich Frequenz und Amplitude ist es vergleichbar mit dem von GOLENHOFEN und v.LOH (60) beschriebenen Sekundenrhythmus der elektrischen Aktivität der Portalvene des Meerschweinchens.

Das Schrittmacherpotential, das formal dem Aktivitätsmuster automatisch tätiger Herzmuskelzellen (Sinusknoten) ähnlich ist, besteht aus einer langsamen, linear ansteigenden Depolarisation, die bei Erreichen eines Schwellenwertes in den steilen Anstieg eines Aktionspotentials übergeht (Abb. 27 A). Schrittmacherpotentiale sind nicht bei allen Zellpunktionen an der Pfortader nachzuweisen. Möglicherweise existieren nur wenige spezielle Schrittmacherzellen, die primär die Spikes induzieren und auf andere Zellen (Folgezellen) überleiten.

Ein von GOLENHOFEN und v.LOH (60) beschriebener basaler organspezifischer Rhythmus (BOR), mit Potentialänderungen von 10 bis 30 mV in einer Frequenz von 5 bis 10 pro Minute, ist dem Minutenrhythmus untergeordnet. Er tritt unregelmäßig auch in den vorliegenden Untersuchungen auf. So zeigt Abb.6 drei Bursts, die im Minutenrhythmus aufeinanderfolgen. Dabei weisen der erste und der zweite eine Untergliederung im Sinne des BOR auf. Die darüberliegenden Kontraktionskomplexe haben

ein entsprechendes Muster.

Die beschriebenen langsamen Potentialänderungen modulieren die Spikegeneration an der V.portae. Der Spike ist die schnellste depolarisierende Membranpotentialänderung. Seine Amplitude beträgt $50,4 \pm 3,8$ mV bei einer maximalen Anstiegsgeschwindigkeit von $4,45 \pm 0,5$ V sec⁻¹ und einer maximalen Abstiegsgeschwindigkeit von $4,06 \pm 0,5$ V sec⁻¹. Die von uns ermittelten Spikeparameter lassen sich hinsichtlich der Amplitudenhöhe mit den von anderen Autoren (60, 68, 91) in Einklang bringen. Die maximale Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit wurde bisher an der Portalvene nur von zwei Arbeitsgruppen beschrieben (68,99). Während die genannten Anstiegsgeschwindigkeiten von $4,6$ V sec⁻¹ (91) bzw. $4,8$ V sec⁻¹ (99) relativ gut mit unserem Meßwert ($4,45$ V sec⁻¹) übereinstimmen, liegen die angegebenen Werte für die Abstiegsgeschwindigkeit mit $2,3$ V sec⁻¹ (91) und $3,6$ V sec⁻¹ (99) deutlich niedriger als unser Mittelwert ($4,06$ V sec⁻¹).

Die Spikes werden bei der V.portae gewöhnlich in Form von Salven während des Ablaufs der slow waves abgefeuert. Die Überlagerung dieser beiden Komponenten stellt den sogenannten Burst dar, der bereits von anderen Autoren (60,68,91,99) an der V.portae beschrieben wurde. Die Aktionspotentialfrequenz wird dabei durch den Verlauf der slow waves moduliert. Der Burst beginnt mit einer hohen Spikefrequenz, assoziiert mit einer raschen Depolarisation, von deren Niveau die Spikegeneration in Form von Einzelspikes (Abb. 6) erfolgt. Mit zunehmender Burstdauer und Repolarisation des MP kommt es zu einer Frequenzabnahme. Es treten vermehrt Doppelspikeentladungen im Verlauf einer kurzdauernden Depolarisationswelle auf. Der zweite Spike wird dabei von einem höheren Depolarisationsniveau des MP abgefeuert und ist in Amplitude und Ablaufgeschwindigkeit reduziert. Die zweite Spikeentladung kann schließlich dermaßen schwach ausgeprägt sein, daß sie nur noch als langsame Depolarisationswelle erscheint (Abb. 6). Diese Spikeform beschreiben ITO und KURIYAMA (68) als "spike with a hump".

Die Spikeentladung kann nicht nur vom Niveau des MP während der slow waves (Burst), sondern auch vom RMP aus durch Schritt-

macherpotentiale und elektrotonische Potentiale erfolgen, besonders bei Präparaten mit Dauerspikeentladungen (Abb. 8). Während der Spike dem Schrittmacherpotential, einer langsamen linear ansteigenden Depolarisation, bei Erreichen einer kritischen Schwelle folgt, kann er im Verlauf eines elektrotonischen Potentials zu jedem Zeitpunkt der Depolarisation auftreten. Derartige Verknüpfungen zwischen den langsamen und schnellen Membranpotentialänderungen wurden bisher an der *Taenia coli* des Meerschweinchens beschrieben (105).

Bei der gleichzeitigen Messung der Kraftentwicklung des Gesamtpräparates und der elektrischen Aktivität der Einzelzelle zeigt sich, daß auch bei der *V.portae* eine Kopplung zwischen elektrischer und mechanischer Spontanaktivität (elektromechanische Kopplung) besteht.

Diese elektromechanische Kopplung geht bei der *V.portae* jedoch nicht soweit, daß sich die gemessene Kraftentwicklung des Gesamtpräparates der registrierten elektrischen Aktivität der Einzelzelle immer wie in Abbildung 6 zuordnen läßt. Eine sehr weitgehende Synchronisation zwischen intrazellulär gemessener elektrischer Aktivität und der entwickelten Kontraktion ist bei der *Taenia coli* des Meerschweinchens zu beobachten (105). Dieser hohe Synchronisationsgrad der elektrischen Aktivität des Zellverbandes der *Taenia coli* drückt sich auch darin aus, daß mittels extrazellulärer Ableittechnik an der *Taenia coli* hohe Summenaktionspotentiale erfaßt werden können (bis zu 40 mV). Bei der *V.portae* dagegen sind wesentlich geringere Summenaktionspotentiale mit der gleichen Methode zu messen (9, 10, 11, 12, 125). Dies kann als weiterer Hinweis dafür gelten, daß der Synchronisationsgrad des Zellverbandes bei der *V.portae* nicht sehr hoch ist. Somit ist der momentane elektrische Aktivitätszustand der Einzelzelle nicht immer repräsentativ für die im gleichen Augenblick registrierte Kraftentwicklung des Gesamtpräparates. GOLENHOFEN und v.LOH (60) bestätigen dies, indem sie bei der *V.portae* von einer nur "relativen Korrelation" zwischen elektrischem Aktivitätsmuster der penetrierten Zelle und der Kontraktionskraft des Gesamtpräparates sprechen.

Die Erhöhung der Osmolarität unserer Inkubationslösung auf 446 mosmol/l, durch Zusatz von Saccharose, führt zu einer Hyperpolarisation des MP um 4,7 mV auf -63,6 mV. Auf denselben Tatbestand weisen auch andere Autoren (7, 70, 72, 76) hin, ohne jedoch das Ausmaß der Hyperpolarisation anzugeben. Als Ursache dieser Hyperpolarisation ist eine Veränderung des Kalium-Gradienten anzusehen. Ein Anstieg des intrazellulären Kalium-Gehaltes, bedingt durch die Schrumpfung des intrazellulären Volumens, führt zu einer Erhöhung des RMP. Dies steht in Einklang mit der Hypothese, daß das RMP zum größten Teil ein passives Diffusionspotential darstellt (127), dessen Wert bei bekannter Ionenverteilung nach der Goldman-Gleichung (S. 8) errechnet werden kann. Im Gegensatz dazu beschreiben ITO und KURIYAMA (68) bei erhöhter Osmolarität der Inkubationslösung eine Depolarisation der Zellmembran der Muskelzelle der V. portae. Eine mögliche Erklärung dieser konträren Resultate liefert die Tatsache, daß das Ausmaß der Hyperosmolarität bei ITO und KURIYAMA (68) wesentlich höher (292 mosmol/l) ist, als in der vorliegenden Untersuchung (146 mosmol/l).

Laut ARVILL et al. (7) bewirkt eine Hyperosmolarität der Lösung von 150 mosmol/l eine Verminderung des Intrazellulär-raumes um 34 %. JOHANSSON (70) sieht diese Zellschrumpfung als Ursache der von ihm gefundenen vollständigen Hemmung der elektrischen und mechanischen Spontanaktivität glatter Muskelzellen in hyperosmolaren Lösungen an. Diese Theorie ist jedoch nur für die ersten Minuten nach Inkubation in einer hyperosmolaren Lösung überzeugend, denn unsere Langzeitableitungen elektrischer und mechanischer Spontanaktivität der Portalvene zeigen eindeutig, daß die von JOHANSSON (70) gefundene Unterdrückung der Spontanaktivität nur vorübergehend auftritt. Nach 30- bis 40minütiger Adaptation des Gewebes an die hyperosmolare Lösung kann wieder Spontanaktivität registriert werden. Ihr Muster (Abb. 9) unterscheidet sich nicht wesentlich von dem in isoosmolarer KREBS-Lösung (Abb. 6). Die einzelnen Parameter der elektrischen Aktivität in isoosmolarer (Tab. 2) und in hyperosmolarer KREBS-Lösung (Tab. 3) zeigen ebenfalls keine grundle-

genden Abweichungen. Eine mögliche Ursache für die Restitution der Spontanaktivität nach langer Inkubation in einer hyperosmolaren Lösung kann in einer Normalisierung der intrazellulären Kalium-Konzentration gesehen werden.

Untersuchungen über den Effekt der Inkubationstemperatur auf die Spontanaktivität tragen bei zur Klärung der Beteiligung aktiver Prozesse an der elektrischen Aktivität glatter Muskelzellen. Über den Temperatureffekt auf das intrazellulär gemessene Membranpotential der *V. portae* des Meerschweinchens liegt lediglich eine Untersuchung von KURIYAMA et al. (91) vor. Demnach bewirkt eine schrittweise Reduzierung der Inkubationstemperatur von 35,5 auf 4,5°C eine Membrandepolarisation von -50,4 auf -31,2 mV. Ein analoges Ergebnis finden wir auf umgekehrtem Wege: bei schrittweiser Temperaturerhöhung von 22 über 25 und 30 auf 37°C steigt das RMP von -53 auf -63,6 mV an (Tab.5), wobei die Minutenrhythmik im gesamten Temperaturbereich auftritt (Abb. 10 A und B). Diese auffallende Resistenz der Minutenrhythmik gegenüber niedrigen Temperaturen beschreiben auch GOLENHOFEN und v.LOH (61) an der *Taenia coli* des Meerschweinchens.

Bei der Temperatur von 22°C zeigt sich eine besonders auffallende Veränderung im Ablauf der Spikes in der Repolarisationsphase. Während normalerweise die Repolarisation innerhalb weniger Millisekunden abgeschlossen ist, dauert sie unter diesen Bedingungen weit mehr als eine Sekunde, ein Hinweis dafür, daß besonders an der Repolarisation der Membran temperaturabhängige Prozesse beteiligt sind. Die Abhängigkeit des RMP und des Spikeablaufes von der Inkubationstemperatur kann dadurch entstehen, daß aktive elektrogene Prozesse, die sowohl einen Beitrag zum RMP liefern als auch an der Membranrepolarisation beteiligt sind, durch niedrige Temperaturen gehemmt werden. Somit würde sich der geringere Wert des RMP und die Verlangsamung der Membranrepolarisation bei Temperaturerniedrigung erklären lassen. Unabhängig davon besteht jedoch die Möglichkeit, daß auch das passive Diffusionspotential durch eine besondere Temperaturabhängigkeit der K^+ -Permeabilität von der

Temperatur beeinflusst wird. Auch dies kann zur Verminderung des RMP bei niedrigen Temperaturen beitragen.

Unter konstanten Bedingungen sind das Niveau des MP und die AP-Frequenz umgekehrt zueinander korreliert: je höher der Wert des MP desto niedriger ist die AP-Frequenz. Temperaturvariationen führen zu einer Dissoziation dieser Beziehung. Mit steigender Temperatur nehmen sowohl das RMP als auch die Frequenz zu. Auf diese Tatsache weist auch RIEMER (105) bei der *Taenia coli* des Meerschweinchens hin. Er schließt daraus, daß die Temperatureffekte auf die AP-Frequenz nicht durch Änderungen des MP vermittelt sind und daß die Temperatur einen direkt stimulierenden Einfluß auf den ionalen Mechanismus haben muß, der die Frequenz der Spikes kontrolliert.

Die Spontanaktivität der *V.portae* zeigt eine Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration. Deren Erhöhung bewirkt leichte Membranhyperpolarisation, Verlängerung der Burst- und Intervalldauer. Ihre Erniedrigung hat den gegenteiligen Effekt. In nominell Calcium-freier Lösung erlischt die Spontanaktivität. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen gut mit den von anderen Autoren mittels extrazellulärer Ableittechnik an der Portalvene (12, 15, 125) und mittels intrazellulärer Mikroelektrodenteknik an der *Taenia coli* (61, 105) gefundenen Resultaten überein.

Ursache für die durch Variation des Calcium-Gehaltes im EZR bedingten Veränderungen der elektrischen Aktivität sind Änderungen in der Membranleitfähigkeit für Ionen. So steigern die Calcium-Ionen im EZR die Kaliumleitfähigkeit (P_K^+) und vermindern die Natriumleitfähigkeit (P_{Na^+}) und/oder die Chloridleitfähigkeit (P_{Cl^-}). Eine Steigerung der Calcium-Konzentration im EZR führt zu einer Erniedrigung des Membranwiderstandes, wogegen dieser durch eine Verminderung der extrazellulären Calcium-Konzentration erhöht wird (31).

Die gefundenen Ergebnisse stehen im Einklang mit der Hypothese (23), daß die Calcium-Ionen bei glatten Muskelzellen Träger des Aktionsstromes während des Spike sind. Calcium-Ionen sind

bei der glatten Muskelzelle der V.portae sowohl für die Funktionsfähigkeit des Spike- als auch des Kontraktionsmechanismus unbedingt erforderlich; denn in nominell Calcium-freier Lösung werden beide rasch inaktiviert.

Eine Stütze für diesen Befund liefern die vorliegenden Ergebnisse aus den Untersuchungen über den Effekt spezifischer Calcium-Antagonisten auf die Spontanaktivität. Von diesen Ca-Antagonisten ist anhand von voltage-clamp Untersuchungen (85) bekannt, daß sie den transmembranalen Ca^{++} -Influx an der Myokardzelle hemmen, ohne dabei den Na^{+} -Einstrom und den K^{+} -Ausstrom während des Aktionspotentials merklich zu stören. Sie bewirken somit eine elektromechanische Entkopplung an der Myokardzelle, denn die Kontraktion wird ohne Beeinflussung des Aktionspotentials gehemmt (49, 50, 52, 53, 62, 85). An der glatten Muskulatur (Rattenuterus, Taenia coli des Meerschweinchens) dagegen hemmen die Ca-Antagonisten neben den Kontraktionen auch die elektrische Erregung der Membran, das fortgeleitete Aktionspotential. Dieser Effekt kann durch Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration antagonisiert werden (50, 51, 106). Nifedipin erweist sich dabei als wesentlich stärker wirksam als Verapamil.

An der Portalvene liegen bisher keine Untersuchungen über den Effekt von Nifedipin auf die elektrische Spontanaktivität vor. Unsere Ergebnisse zeigen, daß Nifedipin in niedriger Konzentration (10^{-9} bis 10^{-8} mol/l) die Spikefrequenz, die Burstdauer und die Burstfrequenz erhöht. Dies führt zu einer Verkürzung der Spike-freien Intervalle und einer Verstärkung der kontraktilen Antwort (Abb. 22 A und B). Das RMP erscheint dabei unbeeinflusst. Der Effekt des Nifedipin auf die elektrische Aktivität ähnelt der Wirkung einer geringgradigen Reduzierung der extrazellulären Calcium-Konzentration. Möglicherweise beruht dies auf einer Interaktion zwischen Nifedipin und membrangebundenem Calcium, wodurch die membranstabilisierende Funktion des Calciums aufgehoben wird. Als Konsequenz ergibt sich eine stärkere Aktivierung des Kontraktionsmechanismus.

Stimulierende Effekt von Ca-Antagonisten in niedriger Konzentration auf die elektrische Spontanaktivität wurden bisher nicht beschrieben, lassen sich jedoch gut in Einklang bringen mit den Ergebnissen aus Untersuchungen über spontane und induzierte mechanische Aktivität (131).

In höherer Konzentration (3×10^{-8} mol/l) bewirkt Nifedipin eine Umwandlung der Burst-Aktivität in eine rhythmisch modulierte Dauerspikeregeneration. Spikeamplitude, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit werden Dosis-abhängig reduziert. Dies ist verbunden mit Amplitudenabnahme und Frequenzsteigerung der phasischen Kontraktionen.

Hohe Nifedipinkonzentrationen (10^{-7} mol/l) führen zu einem unmitttelbaren Sistieren der Spikeregeneration, ohne das RMP wesentlich zu ändern. Begleitet wird dieser Effekt von einer Erschlaffung des Präparates.

Bei erhöhtem extrazellulären Ca-Gehalt wird der Nifedipin-Effekt abgeschwächt. Er kann aber nicht in allen Dosisbereichen vollständig antagonisiert werden.

Aus dem Befund, daß die Hemmung der Kontraktion durch höhere Konzentrationen von Nifedipin immer verbunden ist mit einer Hemmung des Spikemechanismus, kann geschlossen werden, daß der primäre Angriffspunkt des Nifedipin den dem Spike zugrundeliegenden Ionenprozessen gilt. Dies steht nur scheinbar in Widerspruch zu Befunden an der Herzmuskelzelle, bei denen die Kontraktion gehemmt wird, ohne daß das AP wesentlich beeinflußt wird (52, 53, 62, 85). Denn das Aktionspotential der Herzmuskelzelle hat aufgrund seiner höheren Ausdifferenzierung eine viel größere Unabhängigkeit von den extrazellulären Calcium-Ionen gewonnen als dies bei den glattmuskulären Zellen möglich ist, deren elektrische Aktivität entscheidend von der Intaktheit der Membran-Calcium-Kanäle abhängig ist.

Die Lokalanästhetika Mepivacain, Prilocain, Procain und das Antiarrhythmikum Tocainid führen zu einer konzentrationsabhängig biphasischen Änderung der spontanen elektromechanischen Aktivität der isolierten V.portae.

Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit den von SANDERS (111), ABERG und ANDERSSON (2) und BLAIR (17) an der V.portae der Ratte und den von ZINNOBLER (131) an der V.portae des Meerschweinchens gemachten Beobachtungen über den Effekt der Lokalanästhetika auf die mechanische Spontanaktivität. So bewirken niedrige Konzentrationen (10^{-5} bis 10^{-3} mol/l) bei uns eine Steigerung der elektrischen Aktivität der V.portae: geringe Depolarisation des MP, erhöhte Burst- und Spikefrequenz, verkürzte Ruheintervalldauer. Schließlich kommt es zu einer Ablösung der Burstaktivität durch eine Dauerspikegeneration. Die Spikes werden dabei von einem niedrigeren Niveau des MP abgefeuert; ihre Amplituden, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeiten sind reduziert.

Hohe Konzentrationen der Lokalanästhetika (über 10^{-3} mol/l) bedingen nur noch eine geringe Verstärkung der Membrandepolarisation. Spikeamplitude, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes werden zunehmend reduziert, und es kommt schließlich zu einem völligen Sistieren der Spikegeneration, wobei das Präparat erschlafft. Zwischen elektrischer und mechanischer Aktivität bleibt dabei die Korrelation immer erhalten.

Analog zu den vorliegenden Resultaten sind sowohl stimulierende als auch hemmende Effekte der Lokalanästhetika auf die intrazellulär gemessene elektrische Aktivität der Harnblase des Meerschweinchens (86, 87, 88) und der Pulmonalarterie des Kaninchens (69) beschrieben.

ABERG und WAHLSTRÖM (3) finden bei ihren Untersuchungen über den Effekt der Lokalanästhetika (Mepivacain) auf die elektrische (extrazellulär gemessen) und mechanische Aktivität der Rattenportalvene eine Störung der zwischen beiden normalerweise bestehenden Korrelation. So steigern initiale Konzentrationen von Mepivacain die mechanische Aktivität, ohne die Spikeaktivität zu beeinflussen, während diese sich paradoxerweise erhöht, als das Präparat bei hohen Dosen von Mepivacain zu erschlaffen beginnt.

Diese Ergebnisse sind in sich selbst und zu den von uns gemach-

ten Beobachtungen widersprüchlich. Eine mögliche Erklärung dafür wäre darin zu sehen, daß diese Autoren die extrazelluläre Ableittechnik verwendet haben, auf deren begrenzte Aussagefähigkeit bei der Erfassung quantitativer elektrischer Membranparameter bereits bei der Diskussion der Methodik hingewiesen wurde.

Das Antiarrhythmikum Tocainid hat einen sowohl qualitativ als auch quantitativ ähnlichen Effekt auf die Spontanaktivität der V.portae wie die Lokalanästhetika.

Der stimulierende und der hemmende Effekt der Lokalanästhetika auf die Spontanaktivität lassen sich mit einer Interaktion zwischen Ca-Ionen und Lokalanästhetikum erklären. So führt eine Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration zu einer Abschwächung des hemmenden Effektes der Lokalanästhetika und des Antiarrhythmikums. Der stimulierende Effekt bleibt somit noch in einem höheren Konzentrationsbereich erhalten. Das Ausmaß der Depolarisation und der Hemmung der Spikeentladung, vermittelt durch höhere Konzentrationen der Lokalanästhetika, wird durch eine Erhöhung des Calcium-Gehaltes im EZR antagonisiert (Abb. 21 C, 22 A und B, Tab.6 und 7). Diesen Antagonismus zwischen Calcium-Ionen und Lokalanästhetika beschreiben auch andere Autoren (2, 16, 17, 39, 46, 47, 86, 87, 111).

Alle bisher diskutierten Pharmaka zeichnen sich durch einen biphasischen Effekt auf die Spontanaktivität der V.portae aus. In niedrigen Konzentrationen führen sie zu einer Förderung und in hohen Konzentrationen zu einer Unterdrückung der Spontanaktivität. Ihr Effekt zeigt eine Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration.

Durch Nifedipin kommt es zu einer Steigerung der Spikegeneration, ohne daß dabei der Spikeablauf und das RMP wesentlich verändert werden. Die Lokalanästhetika und Tocainid bewirken dagegen eine stärkere Membrandepolarisation und Zunahme der Spikefrequenz. Die Amplitude und die Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes werden dabei vermindert. Diese Änderungen der elektrischen Aktivität sind gekoppelt mit einer Zunahme der phasischen und tonischen Kontraktionen.

Bei erhöhter extrazellulärer Calcium-Konzentration sind höhere Konzentrationen erforderlich, um den gleichen stimulierenden Effekt zu erzielen. Dies kann als Hinweis auf eine Interaktion zwischen den Pharmaka und dem Calcium an der Membran gelten, wodurch die membranstabilisierende Wirkung des Calciums reduziert und damit ihre elektrische Erregbarkeit erhöht wird.

In höheren Konzentrationen wirken die Vertreter aller drei Stoffklassen in charakteristischer Weise hemmend auf die Spontanaktivität. Ihr gemeinsames Merkmal ist die Hemmung der spontanen Spikegeneration, die sekundär zum Sistieren der mechanischen Spontanaktivität führt.

Das RMP bleibt dabei durch Nifedipin relativ unbeeinflusst. Die Burstaktivität wird durch eine rhythmisch modulierte Dauerspikeaktivität abgelöst. Die Spikeparameter werden zunehmend reduziert und es kommt schließlich zum Sistieren der Spikegeneration verbunden mit einer Relaxation des Präparates. Dieser Nifedipin-Effekt ähnelt sehr stark einem Entzug extrazellulären Calciums (vgl. Abb. 11 A bis E mit Abb. 12 D bis G) und kann durch eine Erhöhung extrazellulären Calciums teilweise antagonisiert werden.

Dagegen wird das RMP durch die Lokalanästhetika und Tocainid um 10 bis 20 mV depolarisiert; die rhythmische Modulation entfällt (Dauerdepolarisation); die Spikegeneration wird zunehmend gehemmt und das Präparat erschlafft. Durch eine Erhöhung der Calcium-Konzentration im EZR kann auch dieser Effekt antagonisiert werden, wobei besonders die Einwärtskomponente des Spike (rasche Depolarisation) normalisiert wird. Die Repolarisationsphase kann dadurch weniger beeinflusst werden. Dies zeigt sich in der unterschiedlich starken Änderung der Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeiten (Abb. 21 C, Tab. 6).

Die Ionophore A 23187 führt ab einer Konzentration von 10^{-8} mol/l zu einer Steigerung der Spontanaktivität der V.portae und erreicht bei etwa 5×10^{-6} mol/l ihr Wirkungsmaximum.

Die vorliegenden Meßergebnisse widersprechen eindeutig den allein auf mechanische Untersuchungen gestützten Vermutungen anderer Autoren (78, 118), daß der durch die Ionophore an glatten Muskelzellen vermittelte Effekt elektroneutral sei, denn nach unseren Resultaten wird die Membran geringgradig depolarisiert, die Burstfrequenz ist erhöht, die Spike-freien Intervalle sind stark verkürzt. Die Amplitude der Spikes ist leicht reduziert, ihre An- und Abstiegsgeschwindigkeit nicht wesentlich verändert (Abb. 24). Dagegen korreliert die von uns beobachtete gleichzeitige Zunahme der Frequenz der phasischen Kontraktionen verbunden mit einem leichten Anstieg des Basaltonus (tonische Komponente), die im Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren (95, 98, 108, 109) steht, recht gut zu den erhaltenen elektrophysiologischen Befunden (Abb. 24).

Die Ionophorewirkung weist eine Abhängigkeit vom Calcium-Gehalt im EZR auf. So führt eine Erhöhung des Calciums im EZR zu einer Abschwächung des elektrischen Membraneffektes. Eine erhöhte Netto-Ca-Aufnahme durch die Ionophore sowie eine Abhängigkeit ihrer Wirkung vom extrazellulären Calcium- und Natrium-Gehalt beschreiben ROSENBERGER und TRIGGLE (109). Die erhöhte Netto-Ca-Aufnahme unter Ionophorewirkung kann dabei durch Calcium-Antagonisten (D 600 und Nifedipin) gehemmt werden. ROSENBERGER und TRIGGLE (109) schließen daraus, daß die Ionophore A 23187 über einen initialen depolarisierenden Na^+ -Einstrom nicht nur extrazelluläre Calcium-Ionen transloziert, sondern auch potentialgesteuerte Ca^{++} -Kanäle aktiviert. Nach unseren Ergebnissen kann diese Hypothese um folgende Aussagen erweitert werden: Die Ionophore A 23187 verändert die Membranpermeabilität für Ionen derart, daß daraus eine Depolarisation resultiert. Gleichzeitig wird die Spikegeneration stimuliert und der Kontraktions/Relaxationsmechanismus aktiviert.

Die Ionophore scheint dabei mit dem membrangebundenen Calcium zu interferieren. Dies führt zu einer Änderung des Membranwiderstandes und damit der Ionenleitfähigkeit. Eine Bestätigung findet diese Annahme darin, daß durch Erhöhung der Ca-Konzentration im EZR der Effekt der Ionophore abgeschwächt werden kann.

Die durch die Lokalanästhetika und das Tocainid vermittelten Effekte auf die elektrische Spontanaktivität der V.portae machen deutlich, daß diese nicht ausschließlich auf einer Interaktion mit den Calcium-Ionen beruhen, sondern auch andere für die normale elektrische Aktivität wichtige Faktoren beeinflussen. In diesem Zusammenhang können die von uns durchgeführten Untersuchungen über die Bedeutung des Natrium-Calcium-Verhältnisses für die elektrische und mechanische Spontanaktivität wesentliche Hinweise liefern. Auch andere Autoren weisen auf die Bedeutung des Natrium-Calcium-Verhältnisses für die Spontanaktivität hin (15, 18, 24, 84). So zeigen unsere Resultate, daß für das Auftreten von elektrischer und mechanischer Spontanaktivität Natrium-Ionen nicht essentiell sind. Spikes und Kontraktion treten - in charakteristisch veränderter Weise - auch bei völliger Abwesenheit von Natrium-Ionen im EZR auf (Abb. 25 und 27).

Der Effekt einer Entfernung von Natrium-Ionen aus der Inkubationslösung läßt sich in drei aufeinanderfolgende Phasen gliedern:

- 1) Der unmittelbare Entzug des gesamten Natrium hat eine starke Hyperpolarisation der Membran zu Folge. Das MP kommt nahe dem K^+ -Gleichgewichtspotential (90 mV) zu liegen (Abb.25). Spikegeneration und Kraftentwicklung kommen zum Erliegen.

Diese Hyperpolarisation in Na-freier, Cl-armer Lösung (Ca-2,5) bestätigt die Theorie, daß das Membranpotential im wesentlichen ein passives Diffusionspotential darstellt, das durch die Goldman-Gleichung (S.8) quantitativ beschrieben werden kann. Natrium- und Chlorid-Ionen haben demzufolge einen nicht zu vernachlässigenden Beitrag zum normalen MP der glatten Muskelzelle.

- 2) Nachdem das Maximum der Hyperpolarisation erreicht ist, beginnt die Membran langsam zu depolarisieren. Aus einem im Vergleich zum RMP in KREBS sehr hohen Niveau des MP kommt es zu einer salvenartigen Spikeentladung, die verbunden ist mit einem tonischen Spannungsanstieg.

- 3) Mit zunehmender Inkubationsdauer in Na-freier Lösung depolarisiert die Membran immer mehr. Die Spikegeneration wird schließlich durch einen Depolarisationsblock gehemmt. Die tonische Spannungskomponente fällt dabei langsam ab.

Die beiden letztgenannten Phasen scheinen die Konsequenz aus einem zunehmenden Widerstandsverlust der Membran zu sein, der in einer stetig ansteigenden Membrandepolarisation mit vorübergehender Spikeaktivität resultiert. In diesem Zusammenhang ist die auf Tracer-Untersuchungen beruhende Hypothese von BLAUSTEIN (18) von Bedeutung. Sie besagt, daß der normale Ca^{++} -Gradient an der Membran abhängig ist von einer ausreichenden Na^{+} -Konzentration im EZR. Dementsprechend zeigt sich auch in den vorliegenden Resultaten, daß für die Repolarisation der Membran Natrium-Ionen im EZR absolut notwendig sind, denn ohne extrazelluläres Natrium kann die für die Spikegeneration erforderliche Höhe des MP nicht aufrechterhalten werden. Dabei scheint die Rolle des Natriums darin zu bestehen, über einen transmembranalen Austauschmechanismus die Konzentration an freien Calcium-Ionen im IZR zu erniedrigen und damit eine Repolarisation der Membran und eine Relaxation des kontraktile Apparates zu ermöglichen. Nach REUTER, BLAUSTEIN und HÄUSLER (104) liefert der hohe Na^{+} -Gradient die nötige Energie, um die Calcium-Ionen aus der Zelle zu pumpen. Von BREEMEN et al. (24, 25) bezweifeln dies. Nach ihrer Meinung ist die Ca^{+} -Extrusion ATP-abhängig, wobei sie allerdings einräumen, daß ihre Effizienz vom Na^{+} -Gradienten beeinflusst wird.

Die genannten Theorien und die vorliegenden Resultate bestätigen gemeinsam, daß die normale Funktionsfähigkeit der Membran glatter Muskelzellen von einem bestimmten Ca^{++} -Gradienten abhängig ist. Wird dieser in größerem Ausmaß verschoben, so bricht die Membranfunktion zusammen. Erhärtet werden diese Ausführungen dadurch, daß schon bei Zugabe kleiner Natriummengen (3,9, 18 mmol/l) die Hyperpolarisation in Ca-2,5-Lösung abgeschwächt wird, die Spontanaktivität bereits führer ein-

setzt und der Depolarisationsblock wesentlich später auftritt (Abb. 26 A, B, C). Der tonische Spannungsanstieg, ausgelöst durch Inkubation in Na-freiem Medium, wird durch steigende Natrium-Konzentrationen zunehmend verringert.

In einer Na-freien Lösung mit normalem Cl- und exzessivem Ca-Gehalt (Ca - 66) ist die Hyperpolarisation etwas geringer als in Ca - 2,5. Der Zeitraum bis zum Einsetzen der Spikegeneration ist verlängert, die Spikeentladung wird länger aufrechterhalten, während die anschließende Dauerdepolarisation etwa den gleichen Grad erreicht, wie in Ca-2,5-Lösung (Abb. 27 A).

Um die Beteiligung aktiver Stoffwechselprozesse an der elektrischen Aktivität der Portalvene des Meerschweinchens abzuklären, haben wir den Effekt von Ouabain (g-Strophantin) untersucht. Ouabain, eine Glykosid-Verbindung, von der bekannt ist, daß sie die Natrium-Kalium-ATPase hemmt, führt in einer Konzentration von 10^{-5} mol/l zu einer Membrandepolarisation und einer Steigerung der Spikefrequenz. Mit zunehmender Dauer der Inkubation nimmt der Grad der Depolarisation wieder ab. Ebenso verhält sich die AP-Frequenz. Die Spikeamplituden werden durch Ouabain verringert, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit nehmen ab. Nach längerer Einwirkungsdauer bewirkt Ouabain ein Sistieren der Spikegeneration bei relativ normaler Größe des MP. Dies ist verbunden mit einer Erschlaffung des Präparates.

Diese Ergebnisse stehen mit der Hypothese in Übereinklang, daß aktive elektrogene Prozesse einen Beitrag zum Membranpotential leisten. Eine α -adrenerge Wirkung von Ouabain, wie sie von einigen Autoren (29, 79, 80) beschrieben wird, kann jedoch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die elektrische Aktivität der isolierten Pfortader des Meer-schweinchens wurde mittels intrazellulärer Mikroelektroden gemessen. Die verwendete Methodik erwies sich als sehr gut geeignet für die Erfassung der elektrischen Membranparameter der V.portae des Meerschweinchens. Die Untersuchungen brachten folgende Ergebnisse:

Die V.portae zeigt in KREBS-Lösung elektrische Spontanaktivität in Form von Bursts, die im Minutenrhythmus auftreten und durch Ruheintervalle unterbrochen werden. Das Ruhemembranpotential (RMP) hat einen Wert von $-58,9$ mV. Die Spikeamplitude beträgt $50,4$ mV. An- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes haben Werte von $4,45$ bzw. $4,06$ V sec^{-1} . Die Erhöhung der Osmolarität der Inkubationslösung um 146 mosmol/l durch Addition von Saccharose beeinflusst das Muster der elektrischen Aktivität unwesentlich. Die einzelnen Parameter werden nur graduell verändert.

Das elektrische Aktivitätsmuster zeigt eine Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur. Mit steigender Temperatur nehmen RMP, Spikefrequenz, Spikeamplitude, Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes zu. Bei niedriger Temperatur ist die Repolarisationsphase der Spikes deutlich verlangsamt.

Einen wesentlichen Einfluß auf die elektrische Spontanaktivität hat die extrazelluläre Calcium-Konzentration. Erhöhung bewirkt leichte Hyperpolarisation, Verlängerung der Burst- und Intervalldauer, Zunahme von Amplitude, An- und Abstiegsgeschwindigkeit der Spikes. Erniedrigung hat den gegenteiligen Effekt. In nominell Ca-freier Lösung sistiert die elektrische Spontanaktivität.

Niedrige Konzentrationen des spezifischen Ca-Antagonisten Nifedipin haben einen stimulierenden Effekt auf die elektrische Aktivität. Dieser äußert sich in einer Zunahme der Spikefrequenz. Höhere Konzentrationen führen dagegen zu einer Abnahme von Frequenz, Amplitude, An- und Abstiegsgeschwindigkeit

der Spikes. Der Effekt von Nifedipin kann durch Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration teilweise antagonisiert werden.

Die Lokalanästhetika und das Tocainid haben einen biphasischen Effekt auf die elektrische Aktivität der Pfortader. Niedrige Konzentrationen bewirken Aktivierung, hohe Konzentrationen Hemmung der Spontanaktivität. Die Aktivierung zeigt sich in Frequenzerhöhung, Hemmung in einer Abschwächung sämtlicher Parameter der elektrischen Aktivität bis zum Sistieren der Spikegeneration infolge Dauerdepolarisation. Erhöhung der Calcium-Konzentration im EZR kann den Effekt der Lokalanästhetika und des Tocainid antagonisieren.

Die Ionophore A 23187 (5×10^{-6} mol/l) bewirkt an der V.portae eine Depolarisation und eine Zunahme der Spikefrequenz. Erhöhung der extrazellulären Ca-Konzentration schwächt diesen Effekt ab.

In Natrium-freien Lösungen bildet die glatte Muskelzelle der Pfortader nach anfänglicher Hyperpolarisation Aktionspotentiale. Nach kurzer Zeit sistiert die Spikeaktivität. Ein Depolarisationsblock tritt auf. Addition geringer Mengen von NaCl zu Natrium-freier Lösung führt zu einer konzentrationsabhängigen Abschwächung der anfänglichen Hyperpolarisation. Die Spikegeneration kann länger aufrechterhalten werden. Der Depolarisationsblock wird hinausgezögert.

Ouabain (10^{-5} mol/l) depolarisiert die Zellmembran und führt zu einer Erhöhung der Spikefrequenz. Nach längerer Inkubationsdauer tritt eine Repolarisation verbunden mit Abnahme der Spikefrequenz ein. Schließlich erlischt die Spikegeneration bei relativ hohem Membranpotential.

S U M M A R Y

The electrical activity of isolated guinea-pig portal vein was studied with glass microelectrodes. This method proved to be very effective in the registration of the electrical membrane parameters of guinea-pig portal vein. The following results have been obtained:

In KREBS solution portal vein shows electrical activity in a pattern of bursts of spikes, which are generated in minute-rhythm. The mean value of the membrane potential is $-58,9$ mV. The spikes have an average amplitude of $50,4$ mV. Their rates of rise and fall are $4,45$ and $4,06$ V sec⁻¹. Hyperosmolarity of the solution (446 mosmol/l) does not influence essentially the electrical pattern. The different electrical parameters change only gradually.

Electrical activity is temperature dependent. Rise of temperature increases the values of membrane potential, frequency, amplitude, rate of rise and fall of the spikes. At low temperatures membrane repolarisation is markedly retarded.

Variations of the external calcium concentration influence considerably the electrical spontaneous activity. Elevation leads to slight hyperpolarisation, increased amplitude, rate of rise and fall of the spikes. Lowering has the opposite effects. In calcium free solution spontaneous activity disappears.

In low doses the calcium antagonistic drug Nifedipine stimulates electrical activity in a way of increased spike discharge. Higher doses diminish the values of frequency, amplitude, rate of rise and fall of the spikes. The effect of Nifedipin can be partially antagonized by increased external calcium concentration.

Local anaesthetic drugs and Tocainide affect the electrical activity in a biphasic manner. Low doses activate, high doses inhibit spontaneous activity. Activation is shown in in-

creased spike frequency, inhibition in decreasing all parameters of electrical activity until spike generation is blocked by a lasting depolarisation. Increased external calcium concentration is capable to antagonize the effects of local anaesthetics and Tocainide.

The Ionophore A 23187 (5×10^{-6} mol/l) depolarizes the cell membrane of guinea-pig portal vein and increases spike frequency. This effect is diminished by increased external calcium concentration.

Isolated guinea-pig portal vein generates action potentials in sodium free solution after initial hyperpolarisation. Short time later spike activity is stopped by a depolarisation block. Addition of small amounts of NaCl to sodium depleted solution decreases the initial hyperpolarisation in a dose dependent manner. Spike activity is maintained for a longer time. The depolarisation block is postponed.

Ouabain (10^{-5} mol/l) depolarizes the membrane and increases the spike discharge. After some time of incubation repolarization occurs, while spike frequency is lowered. Finally spike generation ceases, the membrane potential having a rather high value.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABE, Y., T. TOMITA:
Cable properties of smooth muscle.
J. Physiol. (London) 196, 87-100 (1968)
2. ABERG, G., R. ANDERSSON:
Studies on mechanical actions of Mepivacaine (Carbocaine) and its optically active isomers on isolated smooth muscle; role of Ca^{++} and cyclic AMP.
Acta Pharmacol. Toxicol. 31, 321-336 (1972)
3. ABERG, G., B. WAHLSTRÖM:
Mechanical and electrophysiological effects of some local anaesthetic agents and their isomers on the rat portal vein.
Acta Pharmacol. Toxicol. 31, 255 (1972)
4. ANDERSON, D.K.:
Cell potential and the sodium-potassium pump in vascular smooth muscle.
Fed. Proc. 35, 1294-1297 (1976)
5. ANDERSON, N.C.:
Voltage clamp studies on uterine smooth muscle.
J. Gen. Physiol. 54, 145-165 (1969)
6. ANDERSON, N.C., F. RAMON:
Interaction between pacemaker electrical behaviour and action potential mechanism in uterine smooth muscle. In: Physiology of Smooth Muscle, ed. by E. Bülbring and M.F. Shuba. Raven Press, New York; 53-63 (1976)
7. ARVILL, A., B. JOHANSSON, O. JONSSON:
Effects of hyperosmolarity on the volume of vascular smooth muscle cells and the relation between cell volume and muscle activity.
Acta physiol. scand. 75, 484-495 (1969)
8. ÅSTRÖM, A.:
Influence of some local anaesthetics upon the noradrenaline contraction of isolated strips of rabbit aorta.
Acta physiol. scand. 60, 30-38 (1964)
9. AXELSSON, J.:
Dissociation of electrical and mechanical activity in smooth muscle.
J. Physiol. (London) 158, 381-398 (1961)
10. AXELSSON, J., B. JOHANSSON, O. JONSSON:
Simultaneous recording of electrical and mechanical activity of vascular smooth muscle using the sucrose-gap-technique.
Acta physiol. scand. 68, Suppl. 277, 21 (1966)

11. AXELSSON, J., B. JOHANSSON, O. JONSSON:
The effect of adrenergic drugs on electrical and mechanical activity of vascular smooth muscle. Symposium on electrical activity and innervation of blood vessels, Cambridge 1966.
Bibl. Anat. 8, 16-20 (1966)
12. AXELSSON, J., B. WAHLSTRÖM, B. JOHANSSON, O. JONSSON:
Influence of the ionic environment on spontaneous electrical and mechanical activity of the rat portal vein.
Circ. Res. 21, 609-618 (1967)
13. BELARDINELLI, L., D. HARDER, N.L. SPERELAKIS, R. RUBIO, R.M. BERNE:
Cardiac glycoside stimulation of inward Ca^{++} -current in vascular smooth muscle of canine dog artery.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 209, 62-66 (1979)
14. BENETT, M.R., G. BURNSTOCK:
Application of the sucrose-gap method to determine the ionic basis of the membrane potential of smooth muscle.
J. Physiol. (London) 183, 637-648 (1966)
15. BIAMINO, G., B. JOHANSSON:
Effect of calcium and sodium on contracture tension in the smooth muscle of the rat portal vein.
Pflügers Arch. 321, 143-158 (1970)
16. BIANCHI, C.P., T.B. BOLTON:
Action of local anaesthetics on coupling systems in muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 157, 388-405 (1967)
17. BLAIR, M.R.:
Cardiovascular pharmacology of local anaesthetics.
Brit. J. Anaesth. 47, 247-252 (1975)
18. BLAUSTEIN, M.P.:
Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: a reassessment and a hypothesis.
Amer. J. Physiol. 232 (3), C165-C173 (1977)
19. BOLTON, T.B.:
Electrical properties and constants of longitudinal muscle from avian anterior mesenteric artery.
Blood Vessels 11, 65-78 (1974)
20. BOLTON, T.B.:
Mechanism of action of transmitters and other substances on smooth muscle.
Physiol. Rev. 59, No.3, 606-718 (1979)
21. BOOZ, K.H.:
Experimentelle Untersuchungen zum Problem der kontraktile aktiven V.portae des Meerschweinchens.
Anat. Anz. 113, 68-80 (1963)

22. BOZLER, E.:
Conduction, automaticity and tonus of visceral muscles.
Experientia 4, 213-218 (1948)
23. BRADING, A., E. BÜLBRING, T. TOMITA:
The effect of sodium and calcium on the action potential
of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli.
J. Physiol. (London) 200, 637-654 (1969)
24. BREEMEN, C. van, P. AARONSON:
Ca⁺⁺-movements in smooth muscle.
Chest 78, Suppl. 1, 157-165 (1980)
25. BREEMEN, C. van, P. AARONSON, R. LOUTZENHISER:
Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle.
Pharmacol. Rev. 30, 167-208 (1979)
26. BREEMEN, C. van, B.R. FARINAS, R. CASTEELS, P. GERBA,
F. WYTACK, R. DETH:
Factors controlling cytoplasmic Ca²⁺-concentration.
Phil. Trans. Roy. Soc. London B 265, 57-71 (1973)
27. BRIGGS, A.H., S. MELVIN:
Ion-movements in isolated rabbit aortic strips.
Amer. J. Physiol. 201, 365-368 (1961)
28. BRIGGS, A.H., S. SHIBATA:
Ca and ouabain interaction on vascular smooth muscle.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 121, 474 (1966)
29. BROEKAERT, A., T. GODFRAIND:
The action of Ouabain on isolated arteries.
Arch. int. Pharmacodyn. 203, 393-395 (1973)
30. BÜLBRING, E., G. BURNSTOCK:
Membrane potential changes associated with tachyphylaxis
and potentation of the response to stimulating drugs in
smooth muscle.
Brit. J. Pharmac. Chemother. 15, 611-624 (1960)
31. BÜLBRING, E., T. TOMITA:
Effect of calcium, barium and manganese on the action of
adrenaline in the smooth muscle of the guinea pig taenia
coli.
Proc. Roy. Soc. London Ser. B 172, 121-136 (1969)
32. BÜLBRING, E., I.N. HOOTON:
Membrane potentials of smooth muscle fibres in the rabbits
sphincter pupillae.
J. Physiol. (London) 125, 292-301 (1954)
33. BURNSTOCK, G., M.E. HOLMAN, C.L. PROSSER:
Electrophysiology of smooth muscle.
Physiol. Rev. 43, 482-527 (1963)

34. BURNSTOCK, G., R.W. STRAUB:
A method for studying the effects of ions and drugs on the resting and action potentials in smooth muscle with external electrodes.
J. Physiol. (London) 140, 156-167 (1958)
35. CASTEELS, R.:
Electro- and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle.
Chest 78, Suppl. 1, 150-156 (1980)
36. CASTEELS, R., G. DROOGMANS:
The relation between the membrane potential and the ion distribution in smooth muscle cells. In: Smooth Muscle, ed. by E. Bülbiring et al. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London; 70-99 (1970)
37. CASTEELS, R., G. DROOGMANS, L. RAEYMAKERS:
The nature of the membrane potential and its modification by some experimental factors.
Inserm 50, 137-152 (1975)
38. CASTEELS, R., K. KITAMURA, H. KURIYAMA, H. SUZUKI:
Excitation-contraction coupling in the smooth muscle of the rabbit main pulmonary artery.
J. Physiol. (London) 271, 41-61 (1977)
39. COVINO, B.G., H.G. VASSALLO:
Local anaesthetics; mechanisms of action and clinical use. In: The Scientific Basis of Clinical Anaesthesia, ed. by R.J. Kitz and M.B. Laver. Grune & Stratton, New York-San Francisco-London; 134-137 (1976)
40. CREED, K.E.
Functional diversity of smooth muscle.
Brit. Med. Bull. 35, No.3, 243-247 (1979)
41. DAEMERS-LAMBERT, C.:
Voltage-clamp studies on rat portal vein. In: Physiology of Smooth Muscle, ed. by E. Bülbiring and M.F. Shuba. Raven Press, New York; 83-90 (1976)
42. DENGLER, R., R. RÜDEL:
Effects of Tocainid on normal and myotonic mammalian skeletal muscle.
Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 29, 270-273 (1976)
43. DEVINE, C.E., A.V. SOMLYO, A.P. SOMLYO:
Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles.
J. Cell Biol. 52, 690-718 (1972).
44. DROOGMANS, G., L. RAEYMAKERS, R. CASTEELS:
Electro- and pharmacomechanical coupling in the rabbit ear artery.
J. Gen. Physiol. 70, 129-148 (1977)

45. ENDO, H., M. TANAKA, Y. OGAWA:
Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmatic reticulum of skinned skeletal muscle fibres.
Nature 288, 34-36 (1970)
46. FEINSTEIN, M.:
Inhibition of contraction and calcium exchangeability in rat uterus by local anaesthetics.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 152, 516-524 (1966)
47. FEINSTEIN, M., M. PAIMRE:
Pharmacological action of local anaesthetics on excitation-contraction coupling in striated and smooth muscle.
Fed. Proc. 28, 1643-1648 (1969)
48. FEINSTEIN, M.B., M. PAIMRE, M. LEE:
Effect of local anaesthetics on excitation-contraction coupling mechanisms.
Trans. N.Y. Acad. Sci. 30, 1073-1081 (1968)
49. FLECKENSTEIN, A.:
Physiologie und Pharmakologie der transmembranären Natrium-Kalium- und Calcium-Bewegungen.
Arzneim.-Forsch. (Drug-Res.) 22, 2019-2028 (1972)
50. FLECKENSTEIN, A.:
Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17, 149-166 (1977)
51. FLECKENSTEIN, A., G. GRÜN, H. TRITTHART, Y.H. BYON:
Uterus-Relaxation durch hochaktive Ca-antagonistische Hemmstoffe der elektromechanischen Koppelung wie Isoptin (Verapamil, Iproveratril), Substanz D600 und Segontin (Prenylamin) - Versuche am isolierten Uterus virgineller Ratten.
Klin. Wochenschr. 49, 32-41 (1971)
52. FLECKENSTEIN, A., K. NAKAYAMA, G. FLECKENSTEIN-GRÜN, Y.K. BYON:
Interaction of H⁺-ions, Ca-antagonistic drugs and cardiac glycosides with excitation-contraction coupling of vascular smooth muscle. In: *Ionic Actions On Vascular Smooth Muscle*, ed. by E. Betz, Springer Verlag, Berlin; 117-123 (1976)
53. FLECKENSTEIN, A., H. TRITTHART, H.-J. DÖRING, K.Y. BYON:
BAY a 1040 - ein hochaktiver Ca-antagonistischer Inhibitor der elektromechanischen Koppelungsprozesse im Warmblütermyokard.
Arzneim.-Forsch. (Drug-Res.) 22, 22-33 (1972)
54. FUNAKI, S.:
Electrical and mechanical activity of isolated smooth muscle from the portal vein of the rat.
Bibliotheca Anat. 8, 5-10 (1966)

55. FUNAKI, S., D.F. BOHR:
Electrical and mechanical activity of isolated vascular smooth muscle of the rat.
Nature 203, 192-194 (1964)
56. GOLDMAN, D.E.:
Potential, impedance and rectification in membranes.
J. Gen. Physiol. 27, 37-60 (1943)
57. GOLENHOFEN, K.:
Die myogene Basis der glattemuskulären Motorik.
Klin. Wochenschr. 56, 211-224 (1978)
58. GOLENHOFEN, K., N. HERMSTEIN:
Differentiation of calcium activation mechanism in vascular smooth muscle by selective suppression with Verapamil and D600.
Blood Vessels 12, 21-37 (1975)
59. GOLENHOFEN, K., N. HERMSTEIN, E. LAMMEL:
Membrane potential and contraction of vascular smooth muscle (portal vein) during application of noradrenaline and high potassium and selective inhibitory effects of iproveratril (verapamil).
Microvasc. Res. 5, 73-80 (1973)
60. GOLENHOFEN, K., D. v. LOH:
Intrazelluläre Potentialmessungen zur normalen Spontanaktivität der isolierten Portalvene des Meerschweinchens.
Pflügers Arch. 319, 82-100 (1970)
61. GOLENHOFEN, K., D. v. LOH:
Tempratureinflüsse auf die Spontanaktivität der isolierten Taenia coli vom Meerschweinchen.
Pflügers Arch. 318, 35-50 (1970)
62. GRÜN, G., A. FLECKENSTEIN:
Die elektromechanische Entkoppelung der glatten Gefäßmuskulatur als Grundprinzip der Koronardilatation durch 4-(2-Nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonssäure-dimethylester (BAY a 1040, Nifedipine).
Arzneim. Forsch. (Drug-Res.) 22, 334-344 (1972)
63. HODGKIN, A.C., A.F. HUXLEY:
Currents carried by sodium and potassium through the membrane of giant axon of loglio.
J. Physiol. (London) 116, 449 (1957)
64. HOLMAN, M.E.:
Electrophysiology of vascular smooth muscle.
Ergebn. Physiol. 61, 137-177 (1969)
65. HOLMAN, M.E., C.B. KASBY, M.B. SUTHERS, J.A.F. WILSON:
Some properties of the smooth muscle of rabbit portal vein.
J. Physiol. (London) 196, 111-132 (1968)

66. HUXLEY, A.F., R. STÄMPFLI:
Direct determination of membrane resting potential and action potential in single myelinated nerve fibres.
J. Physiol. (London) 112, 476-495 (1951)
67. INOMOTA, H., C.Y. KAO:
Ionic currents in an intestinal smooth muscle. In: *Physiology of Smooth Muscle*, ed. by E. Bülbbring and M.F. Shuba. Raven Press, New York; 49-52 (1976)
68. ITO, Y., H. KURIYAMA:
Membrane properties of the smooth muscle fibres of the guinea-pig portal vein.
J. Physiol. (London) 214, 427-441 (1971)
69. ITO, Y., H. SUZUKI, H. KURIYAMA:
Effects of caffeine and procaine on the membrane and mechanical properties of the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery.
Jap. J. Physiol. 27, 467-481 (1977)
70. JOHANSSON, B.:
Osmotic properties of vascular smooth muscle cells. *Proc. Symp. Physiol. Pharmacol. Neuroeffector Systems*, Interlaken 1969. Karger, Basel; 303-312 (1971)
71. JOHANSSON, B.:
Processes involved in vascular smooth muscle contraction and relaxation.
Circ. Res. 43, No.1, Suppl. 1, 1-14 (1978)
72. JOHANSSON, B., O. JONSSON:
Cell volume as a factor influencing electrical and mechanical activity of vascular smooth muscle.
Acta physiol. scand. 72, 456-468 (1968)
73. JOHANSSON, B., B. LJUNG:
Spread of excitation in the smooth muscle of the rat portal vein.
Acta physiol. scand. 70, 312-322 (1967)
74. JOHANSSON, B., A.P. SOMLYO:
Electrophysiology and excitation-contraction coupling. In: *American Handbook of Physiology*; ed. by Amer. Physiol. Soc. Washington D.C.; 301-323 (1968)
75. JOHNSON, P.N., G. INESI:
The effect of methylxanthines and local anaesthetics on fragmented sarcoplasmic reticulum.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 169, No.2, 308-314 (1969)
76. JONSSON, O.:
Effects of variations in the extracellular osmolality on the ionic permeability of vascular smooth muscle.
Acta physiol. scand. 81, 405-421 (1970)

77. JONSSON, O.:
Extracellular osmolality and vascular smooth muscle activity.
Acta physiol. scand., Suppl. 359, 1-48 (1970)
78. KAFKA, M.S., R.W. HOLZ:
Ionophores X-537 and A-23187. Effects on the permeability of lipid bimolecular membranes to dopamine and calcium
Biochim. Biophys. Acta 426, 31-37 (1976)
79. KARAKI, H., H. OZAKI, N. URAKAWA:
Effects of ouabain and potassium-free solution on the contraction of isolated blood vessels.
Europ. J. Pharmacol. 48, 439-443 (1978)
80. KARAKI, H., N. URAKAWA:
Possible role of endogenous catecholamines in the contractions induced in rabbit aorta by ouabain, sodium depletion and potassium depletion.
Europ. J. Pharmacol. 43, 65-72 (1977)
81. KEATINGE, W.R.:
Ionic requirements for arterial action potentials.
J. Physiol. (London) 194, 169-182 (1968)
82. KEATINGE, W.R.:
Mechanical response with reversed electrical response to noradrenaline by Ca-deprived arterial smooth muscle.
J. Physiol. (London) 224, 21-34 (1972)
83. KEATINGE, W.R.:
Ca-concentration and flux in Ca-deprived arteries.
J. Physiol. (London) 224, 35-59 (1972)
84. KÖLLING, K., J. RIEMER:
Studies on spontaneous activity of isolated taenia coli in Na-free, Ca-rich solution.
Pflügers Arch. 373, R 51 (1978)
85. KOHLHARDT, M., B. BAUER, H. KRAUSE, A. FLECKENSTEIN:
Selective inhibition of Ca-conductivity of mammalian cardiac fibre membranes by Ca-antagonistic compounds (Verapamil, D600). *Proc. 25. International Congress of Physiological Sciences, Munich; Vol. 9*, abstract 927, 313 (1971)
86. KURIHARA, S.:
The effect of procaine on the mechanical and electrical activities of the smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder.
Jap. J. Physiol. 25, 775-788 (1975)
87. KURIHARA, S., T. SAKAI:
Inhibitory effects of procaine on the electrical and mechanical activities of the smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder.
Jap. J. Physiol. 26, 503-516 (1976)

88. KURIHARA, S., T. SAKAI:
Relationship between effects of procaine and Ca on spontaneous electrical and mechanical activities of the smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder.
Jap. J. Physiol. 26, 487-501 (1976)
89. KURIYAMA, H.:
Effect of ions and drugs on the electrical activity of smooth muscle.
In: Smooth Muscle, ed. by E. Bülbring et al. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London; 366-394 (1970)
90. KURIYAMA, H., Y. ITO, H. SUZUKI:
Effects of membrane potential on activation of contraction in various smooth muscles. In: Excitation-Contraction-Coupling, ed. by R. Casteels et al. Elsevier/North Holland Biomedical Press, 25-35 (1977)
91. KURIYAMA, H., K. OHSHIMA, Y. SAKAMOTO:
The membrane properties of the smooth muscle of the guinea pig portal vein in isotonic and hypertonic solutions. J. Physiol. (London) 217, 179-199 (1971)
92. LANG, S., M.P. BLAUSTEIN:
The role of the sodium pump in the control of vascular tone in the rat.
Circ. Res. 46(4), 464-470 (1980)
93. LJUNG, B., L. STAGE:
Adrenergic excitatory influences on initiation and conduction of electrical activity in the rat portal vein. Acta Physiol. scand. 80, 131-141 (1970)
94. MADEIRA, V.M.C., A.P. CARVALHO:
Interactions of cations and local anaesthetics with isolated sarcolemma.
Biochim. Biophys. Acta 266, 670-683 (1972)
95. MANDREK, K., K. GOLENHOFEN:
Activation of gastro-intestinal smooth muscle induced by the calcium-ionophore A 23187.
Inserm 56, 343-352 (1975)
96. MELLANDER, S., B. JOHANSSON, S. GRAY, O. JONSSON, J. LUNDVALL, B. LJUNG:
The effects of hyperosmolality on intact and isolated vascular smooth muscle. Possible role in exercise hyperemia. Angiologica 4, 310-322 (1967)
97. MIKKELSEN, E., K.E. ANDERSSON, O. LEDERBALLE PEDERSEN:
Verapamil and Nifedipine inhibition of contractions induced by potassium and noradrenaline in human mesenteric arteries and veins.
Acta pharmacol. toxicol. 44, 110-119 (1979)

98. MURRAY, J.J., P.W. REED, F.S. FAY:
Contraction of isolated smooth muscle cells by ionophore A 23187.
Proc. Nat. Acad. Sci. Vol. 72 (11), 4459-4463 (1975)
99. NAKAJIMA, A., L. HORN:
Electrical activity of vascular smooth muscle.
Fed. Proc. 26, 330 (1967)
100. NAKAJIMA, A., M. KUMAMOTO, L. HORN:
On the mechanism of excitation of vascular smooth muscle.
Physiologist 15, 225 (1972)
101. NAKANO, Y., H. MAKIMURA, H. MORITA:
The spontaneous electrical and mechanical activities of isolated vascular smooth muscles in rat.
Bull. Osaka Med. School 16, 63-73 (1970)
102. NAUMANN d'ALNONCOURT, C., R. CARDINAL, M.J. JAUSE, B. LÜDERITZ, D. DURRER:
Effects of Tocainid on ectopic impulse formation in isolated cardiac tissue.
Klin. Wochenschr. 58, 227-231 (1980)
103. POPESCU, L.M.:
Cytochemical study of the intracellular calcium distribution in smooth muscle. In: Excitation-Contraction Coupling, ed. by R. Casteels et al.; Elsevier/North Holland Biomedical Press, 13-23 (1977)
104. REUTER, H., M.P. BLAUSTEIN, G. HAEUSLER:
Na-Ca-exchange and tension development in arterial smooth muscle.
Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. B; Biol. Sci. 265, 87-94 (1973)
105. RIEMER, J.:
Die Bedeutung der Calcium-Ionen für den Schrittmacher der myogenen Spontanaktivität der Taenia coli vom Meerschweinchen. Habilitationsschrift LMU München (1974)
106. RIEMER, J., F. DÖRFLER, C.J. MAYER, G. ULBRECHT:
Calcium-antagonistic effects on the spontaneous activity of guinea-pig taenia coli.
Pflügers Arch. 351, 241-258 (1974)
107. RIEMER, J., C.-J. MAYER, G. ULBRECHT:
Determination of membrane potential in smooth muscle cells using microelectrodes with reduced tip potential.
Pflügers Arch. 349, 267-275 (1974)
108. ROSENBERGER, L.B., D.J. TRIGGLE:
Calcium, calcium translocation and specific calcium antagonists. In: Calcium in Drug Action, ed. by G.B. Weiss Plenum Press, New York and London; 3-31 (1979)

109. ROSENBERGER, L.B., D.J. TRIGGLE:
The mechanism of action of ionophore A 23187 on guinea-pig intestinal smooth muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 57, 348-358 (1979)
110. RITCHIE, J.M.:
The mechanism of action of local anaesthetic agents.
In: International encyclopedia of pharmacology and therapeutics, ed. by P.Lalat; Sect. 8 Vol.1; Local anaesthetics; 131-166 (Oxford 1971)
111. SANDERS, H.D.:
Procaine-induced contraction in vein and its modification by drugs.
Can.J. Physiol. Pharmacol. 43, 218 (1965)
112. SANDERS, H.D.:
The vasoconstrictor and vasodilator effects of procaine.
Can.J. Physiol. Pharmacol. 49, 39-46 (1969)
113. SEEMAN, P.:
The membrane actions of anaesthetics and tranquilizers.
Pharmacol. Rev. 24, No.4, 583-655 (1972)
114. SOMLYO, A.P., A.V. SOMLYO:
Vascular smooth muscle.
Pharmacol. Rev. 20, 235-251 (1968)
115. SOMLYO, A.P., P. VINALL, A.V. SOMLYO:
Excitation-contraction coupling and electrical events in two types of vascular smooth muscle.
Microvasc. Res. 1, 354-373 (1969)
116. SOMLYO, A.V., A.P. SOMLYO:
Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 159, 129-145 (1968)
117. STÄMPFLI, R.:
A new method for measuring membrane potentials with external electrodes.
Experientia 10, 508-509 (1954)
118. SWAMY, V.C., M. TICKU, C.R. TRIGGLE, D.J. TRIGGLE:
The action of the ionophores, X-537-A and A-23187 on smooth muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 53, 1108-1114 (1975)
119. TODA, N.:
Mechanisms of ouabain-induced arterial muscle contraction.
Amer. J. Physiol. 239, H 199-H 205 (1980)
120. TOMITA, T.:
Electrical properties of mammalian smooth muscle. In: Smooth Muscle, ed. by E. Bülbiring et al. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London; 197-243 (1970)

121. TRIGGLE, D.J., L.C. SWAMY:
Pharmacology of agents that affect calcium.
Agonists and antagonists.
Chest 78 (1), 138-140 (1980)
122. UMEN, M.J., A. SCARPA:
New synthetic calcium-selective ionophores.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 307, 448-450 (1978)
123. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE:
Report of the Hypertension Task Force; Vol. 5
NIH Publication No. 79-1627; 139-245 (1979)
124. UVELIUS, B., B. JOHANSSON:
Relation between extracellular potassium ion concentration and contracture force after abolition of spike discharge in isolated rat portal vein.
Blood Vessels 11, 120-127 (1974)
125. UVELIUS, B., S.B. SIGURDSSON, B. JOHANSSON:
Strontium and barium as substitutes for calcium on electrical and mechanical activity in rat portal vein.
Blood Vessels 11, 245-259 (1974)
126. VOTH, D., M. AGSTEN, R. SCHIPP, H. LUBCKE:
Untersuchungen zur Wirkung von Angiotensin II auf einen autorhythmischen glatten Gefäßmuskel (Pfortader der Ratte).
Arch. Kreislaufforsch. 65, 41-57 (1971)
127. WAHLSTRÖM, B.A.:
Ionic fluxes in the rat portal vein and the applicability of the Goldman equation in predicting the membrane potential from flux data.
Acta physiol. scand. 89, 436-448 (1973)
128. WEISS, B.G.:
Quantitative measurement of binding sites and wash out components for Ca-iones in vascular smooth muscle.
In: Calcium in Drug Action, ed. by G.B. Weiss, Plenum Press, New York and London, 57-74 (1979)
129. WIEDERHIELM, C.A.:
Effects of temperature and transmural pressure on contractile activity of vascular smooth muscle.
Bibliotheca Anat. 9, 321-327 (1967)
130. WINKLE, R.A., J.L. ANDERSON, F. PETERS, P.J. MEFFIN, R.E. FOULES, D.C. HARRISON:
The haemodynamic effects of intravenous tocainide in patients with heart disease.
Circulation 57, 787-792 (1978)
131. ZINNHOBLER, K.H.:
Der Einfluß der Lokalanästhetika und der extrazellulären Calcium-Konzentration auf die Kontraktilität der Vena portae.
Doktorarbeit, LMU München (1981)

D A N K S A G U N G

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. K. Kölling für die Anregung zu dieser Arbeit und für die jederzeit gewährte großzügige Unterstützung bei deren Durchführung.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. U. Lösch und Herrn Priv. Doz. Dr. J. Riemer für die Durchsicht der Arbeit und die wohlwollende Beratung.

Die Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit der Abteilung für Strahlenbiologie (Leiter: Prof. Dr. Dr. U. Hagen) der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in Neuherberg durchgeführt. Ich danke Frau Dr. L. Schachinger, Herrn Dr. M. Ch. Michailov und ihren Mitarbeitern für die freundliche Aufnahme in ihr Labor sowie für die anregenden Diskussionen.

Dem Physiologischen Institut der LMU München (Vorstand: Prof. Dr. G. ten Bruggencate) danke ich für die technische Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 2. August 1955 wurde ich, Manfred Ernst, als Sohn des Landwirts Konrad Ernst und seiner Ehefrau Marianne, geb. Beyer, in Neustadt/Aisch geboren.

In den Jahren 1961 bis 1965 besuchte ich die Volksschule in Oberreichenbach. Im September 1965 trat ich in das Friedrich-Alexander-Gymnasium in Neustadt/Aisch ein und legte dort im Jahre 1974 das Abitur ab.

Im Wintersemester 1974/75 nahm ich das Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München auf. Nach Abschluß des Staatsexamens im Januar 1980 wurde mir im März 1980 die Approbation als Tierarzt erteilt.

Im Frühjahr 1980 begann ich mit den Untersuchungen zu der vorliegenden Dissertation.

